

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI
DR-2025-0040

TNBS İLE İNDÜKLENEN DENEYSEL KOLİT MODELİNDE
MENADİON (VİTAMİN K3) UYGULAMASININ
İNFLAMASYON ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Derya İŞLER
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Gökhan CESUR

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TPF- 24025 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2025

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (TIP) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Derya İŞLER tarafından hazırlanan “TNBS İle İndüklenen Deneysel Kolit Modelinde Menadion (Vitamin K3) Uygulamasının İnflamasyon Üzerindeki Etkileri” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/08/2025

Ünvan, Adı Soyadı	Üniversite	İmza
Üye (T.D.): Prof. Dr. Gökhan CESUR	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye: Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye: Doç. Dr. Mustafa YILMAZ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye: Doç. Dr. Onur ELMAS	Süleyman Demirel Üniversitesi	
Üye: Prof. Dr. Ayşegül KÜÇÜK	Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi	

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecim boyunca, bilgi, tecrübe ve anlayışıyla hep yanımda olan, ders ve tez süreçlerimin yürütülmesinde çok büyük katkı sağlayan değerli hocam danışmanım Prof. Dr. Gökhan CESUR'a çok teşekkür ederim. Yüksek lisans ve doktora süreçlerim boyunca ilgisi ve hoşgörüsü ile her zaman bana katkı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ'ye çok teşekkür ederim. Doktora öğrenim sürecim boyunca bana önemli kazanımlar sağlayan değerli Dr. Öğr. Üyesi. Ferhat ŞİRİNYILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım. Tez sürecim boyunca yol gösterici değerli katkılarıyla bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Doç. Dr. Mustafa YILMAZ'a çok teşekkür ederim. Tez sürecim boyunca edindiğim en güzel kazanımlardan biri olarak tanımaktan onur duyduğum deneylerim süresince öneri ve katkıları ile deneyimi yürütmemi sağlayan Prof. Dr. Turhan DOST'a şükranlarımı sunarım. Deneylerim sırasında beni hiç yalnız bırakmayan, tecrübeleri ve yardımlarıyla her zaman bana güç veren, deney süreçlerimi keyifli bir hale dönüştüren kıymetli dostum Dr. Meltem ÖZTÜRK AYDIN'a çok teşekkür ederim. Biyokimya analizlerimin yürütülmesinde çok büyük katkı sunan deney sürecim boyunca ilgisi ve sunduğu imkanlar ile en zor anlarımda deneylerin sonuçlanmasını sağlayan Prof. Dr. Serdal ÖĞÜT'e teşekkürlerimi borç bilirim. Biyokimya analizlerim süresince beni yalnız bırakmayan bilgi ve birikimiyle sürecime çok büyük katkılar sağlayan, değerli Dr. Öğr. Üyesi. Burçin İrem ABAS'a çok teşekkür ederim. Histopatoloji çalışmalarının yürütülmesinde çok büyük katkılar sunan ilk günden bu yana, titizlikle her detayı önemseyerek bana güven veren Doç. Dr. Nesibe KAHRAMAN ÇETİN'e çok teşekkür ederim. Tezimin son aşamasında istatistik analizlerinin yapılmasında değerli katkılar sunan Arş. Gör. Hakan ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim. Yıllar sonra anneliğimden ve onlara ayırdığım zamandan fedakârlık etmek zorunda kaldığım zamanlarda bana destek olan güç ve moral veren, hayatımın anlamı değerli çocuklarım, canlarım; Rüya Gülce İŞLER ve Alphan Arda İŞLER'e çok teşekkür ederim. Bütün bu süreçte yorulmadan hep elimden tutan, bana güven veren, kendisinden fedakârlık ederek bana bu yolu açan mükemmel baba ve canım eşim Cemil İŞLER'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İBH ve Ülseratif Kolit	4
2.1.1. Etiyolojisi	4
2.1.2. Epidemiyolojisi.....	4
2.1.3. Patogenezi.....	5
2.1.3.1. İBH patogenezinde İnflamasyonun İmmün Bileşenleri	6
2.1.3.2. İBH patogenezinde İnflamasyonun Oksidatif Bileşenleri	12
2.1.4. İBH’ de Klinik, Tanı ve Tedavi.....	16
2.2. Deneyisel Kolit Modelleri	19
2.2.1. TNBS ile İndüklenen Kolit Modeli	20
2.2.2. TNBS ile kolit modelinde biyokimyasal ve histolojik mekanizmalar.....	22
2.3. K Vitaminleri	27

2.3.1. K Vitaminleri Metabolizması	32
2.3.2. K Vitaminleri ve Bağırsak Sağlığı.....	34
2.3.3. Menadion (Vitamin K3)	35
2.3.3.1. Menadionun Nöroprotektif ve Analjezik Potansiyeli	38
2.3.3.2. Menadionun Antihipotansif Potansiyeli	39
2.3.3.3. Menadionun Antibakteriyal Potansiyeli	40
2.3.3.4. Menadionun Antikanser Potansiyeli.....	40
2.3.3.5. Menadion ve Oksidatif Stres	42
2.3.3.6. Menadionun İnflamasyon Üzerindeki Etkileri	45
3. GEREÇ ve YÖNTEM	52
3.1. Etik Kurul Kararı	52
3.2. Araştırma Projesinin Desteklenmesi.....	52
3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	52
3.4. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler.....	53
3.5. Deney Hayvanları.....	54
3.6. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması:	54
3.7. Kolit İndüksiyonu.....	55
3.8. Tedavi Protokolü.....	57
3.9. Sakrifikasyon ve Örneklerin Alınması	59
3.10. Dokuların Homojenizasyonu:.....	61
3.11. Biyokimyasal Analizler	61
3.11.1. TNF- α Düzeylerinin Ölçümü.....	63
3.11.2. IL-1 β Düzeylerinin Ölçümü	63
3.11.3. IL-6 Düzeylerinin Ölçümü	64
3.11.4. PGE ₂ Düzeylerinin Ölçümü.....	64

3.11.5. MPO Düzeylerinin Ölçümü.....	65
3.11.6. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü	66
3.11.7. 8-OHdG Düzeylerinin Ölçümü.....	66
3.11.8. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini	67
3.11.9. GSH-Px Aktivitesinin Tayini	67
3.11.10. TAS Düzeylerinin Ölçümü	68
3.11.11. TOS Düzeylerinin Ölçümü	68
3.11.12. OSI Değerlerinin Hesaplanması	69
3.12. Makroskopik inceleme	69
3.13. Histopatolojik Analizler.....	70
3.14. İstatistiksel Analiz	70
4. BULGULAR	72
4.1. Ağırlık Değişimleri.....	72
4.2. Biyokimya Bulguları	73
4.2.1. Doku TNF-alfa Düzeyleri Bulguları.....	74
4.2.2. Serum TNF- α Düzeyleri Bulguları	75
4.2.3. Doku IL-1 β Düzeyleri Bulguları	76
4.2.4. Serum IL-1 β Düzeyleri Bulguları.....	77
4.2.5. Doku IL-6 Düzeyleri Bulguları	78
4.2.6. Serum IL-6 Düzeyleri Bulguları.....	79
4.2.7. Doku MPO Düzeyleri Bulguları.....	80
4.2.8. Serum MPO Düzeyleri Bulguları	81
4.2.9. Doku PGE ₂ Düzeyleri Bulguları.....	82
4.2.10. Serum PGE ₂ Düzeyleri Bulguları	83
4.2.11. Doku MDA Düzeyleri Bulguları	84

4.2.12. Doku 8-OHdG Düzeyleri Bulguları	85
4.2.13. Doku GSH-Px Düzeyleri Bulguları.....	86
4.2.14. Doku SOD Düzeyleri Bulguları	87
4.2.15. Doku TAS Düzeyleri Bulguları	88
4.2.16. Doku TOS Düzeyleri Bulguları	89
4.2.17. Doku OSI Değerleri Bulguları.....	90
4.3. Makroskobik Bulgular	91
4.4. Histopatolojik Bulgular	93
4.4.1. Total Histopatolojik Bulgular	94
4.4.2. İltihabi İnfiltrasyon Bulguları.....	95
4.4.3. Hemoraji Bulguları	97
4.4.4. Nekroz Bulguları	98
4.4.5. Ödem Bulguları	99
4.4.6. Kript Apseleri Bulguları	100
4.4.7. Goblet Hücre Kaybı Bulguları.....	101
4.4.8. Mukozal Yapı Kaybı Bulguları.....	102
4.4.9. Kolon Duvar Kalınlaşması Bulguları	103
5. TARTIŞMA	114
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	127
KAYNAKLAR	128
EKLER	148
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	149
ÖZ GEÇMİŞ.....	150

SİMGELER VE KISALTMALAR

8-OHdG	:8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin
ABTS	:2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
AChE	:Asetilkolinesteraz
ARDS	:Acute respiratory distress syndrome (Akut solunum sıkıntısı sendromu)
ATP	:Adenozin Trifosfat
CAT	:Katalaz
CD4⁺ T	:Yardımcı T lenfosit
CH	:Crohn Hastalığı
COX	:Siklooksijenaz
CRP	:C-Reaktif Protein
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
DPPH	:2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (radikal temizleme testi)
DSS	:Dekstran Sodyum Sülfat
ERK	:Ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz
GGCX	: γ -Glutamil Karboksilaz
GK	:Glukokortikoid
Gla	: γ -karboksiglutamat
Glu	:Glutamat
GSH	:Glutasyon (indirgenmiş form)
GSH-Px	:Glutasyon Peroksidaz
GSSH	:Oksitlenmiş glutasyon (glutasyon disülfid)
HO	:Heme Oksijenaz

HOCl	:Hipokloröz Asit
HPA	:Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksı
IFN-γ	:İnterferon gama
IgG	:İmmünoglobulin G
IκB	:Kappa B inhibitörü
IKK	:I κ B Kinaz
IL	:İnterlökin
IL-1β	:İnterlökin 1 beta
IL-6	:İnterlökin 6
İBH	:İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
iNOS	:İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LPS	:Lipopolisakkarit
MAPK	:Mitojen Aktive Edilen Protein Kinaz
MDA	:Malondialdehit
MK	:Menakinon
MPO	:Miyeloperoksidaz
mRNA	:Mesajcı Ribonükleik Asit
MSB	:Menadion Sodyum Bisülfid
NAD(P)H	:İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (fosfat)
NADH	:İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NFκB	:Nükleer Faktör kappa B
NLRP3	:NOD-like reseptör ailesi, pirin domain içeren 3
NO	:Nitrik Oksit
Nrf2	:Nükleer faktör eritroid türevi 2 ile ilişkili faktör 2
NSAID	:Steroid Olmayan Antiinflamatuvar İlaç

OSI	:Oksidatif stres indeksi
PGE₂	:Prostaglandin E2
PMN	:Polimorfonükleer lökosit
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
SOD	:Süperoksit Dismutaz
TAS	:Total antioksidan kapasite
Th	:Yardımcı T hücresi (T helper cell)
TNBS	:2,4,6-Trinitrobenzensülfonik Asit
TNF-α	:Tümör Nekroz Faktörü alfa
TOS	:Total oksidan kapasite
Treg	:Düzenleyici T hücresi
ÜK	:Ülseratif Kolit
VK	:Vitamin K
VKDP	:Vitamin K bağımlı protein

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. K vitamini bağımlı proteinlerin Gama-Karboksilasyonu.....	29
Şekil 2. K vitamini türevleri	30
Şekil 3. Menadionun redoks döngüsü	38
Şekil 4. Tüm grupların ilk gün ve son gün ağırlık değişimleri	73
Şekil 5. Grupların TNF- α doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	74
Şekil 6. Grupların TNF- α Serum düzeylerinin karşılaştırılması.	75
Şekil 7. Grupların IL-1 β doku düzeylerinin karşılaştırılması.	76
Şekil 8. Grupların IL-1 β serum düzeylerinin karşılaştırılması.....	77
Şekil 9. Grupların IL-6 Doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	78
Şekil 10. Grupların IL-6 Serum düzeylerinin karşılaştırılması.	79
Şekil 11. Grupların MPO Doku düzeylerinin karşılaştırılması.	80
Şekil 12. Grupların MPO Serum düzeylerinin karşılaştırılması.	81
Şekil 13. Grupların PGE ₂ Doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	82
Şekil 14. Grupların PGE ₂ Serum düzeylerinin karşılaştırılması.	83
Şekil 15. Grupların MDA Doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	84
Şekil 16. Grupların 8-OHdG Doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	85
Şekil 17. Grupların GSH-Px Doku düzeylerinin karşılaştırılması.	86
Şekil 18. Grupların SOD Doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	87
Şekil 19. Grupların TAS Doku düzeylerinin karşılaştırılması.....	88
Şekil 20. Grupların TOS Doku düzeylerinin karşılaştırılması.	89
Şekil 21. Grupların doku OSI değerleri karşılaştırılması.	90
Şekil 22. Grupların makroskobik skorlarının karşılaştırılması.	92

Şekil 23. Grupların total doku hasarı skorlarının karşılaştırılması.....	95
Şekil 24. Grupların iltihabi infiltrasyon skorlarının karşılaştırılması.....	96
Şekil 25. Grupların hemoraji skorlarının karşılaştırılması.	97
Şekil 26. Grupların nekroz skorlarının karşılaştırılması	98
Şekil 27. Grupların ödem skorlarının karşılaştırılması.	99
Şekil 28. Grupların kript apseleri skorlarının karşılaştırılması.	100
Şekil 29. Grupların goblet hücre azalması skorlarının karşılaştırılması.	101
Şekil 30. Grupların mukozal yapı kaybı skorlarının karşılaştırılması.....	102
Şekil 31. Grupların kolon duvar kalınlaşması skorlarının karşılaştırılması.	103

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kafeslerde barındırılan ve gruplandırılmış deney hayvanları.....	55
Resim 2. TNBS uygulaması için hazırlık işlemleri.....	56
Resim 3. TNBS (2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit)	56
Resim 4. İntrarektal TNBS uygulaması	57
Resim 5. TNBS uygulaması sonrası kolit oluşturulmuş sıçanlar	57
Resim 6. Menadion Sodyum Bisülfid	58
Resim 7. İntraperitoneal Menadion Sodyum Bisülfid (Vitamin K3) uygulaması	58
Resim 8. Operasyon öncesinde gerekli malzemelerin hazırlanması	59
Resim 9. Operasyon sırasında sıçanların görünümü.	60
Resim 10. Doku ve kan örneklerinin alınması sırasında sıçanlar	60
Resim 11. Biyokimya analizlerine hazırlık sırasında yapılan işlemler	61
Resim 12. Elisa testleri sırasında yapılan işlemler.....	62
Resim 13. Elisa testlerinde kullanılan mikrolaka okuyucusu	62
Resim 14. Tüm grupların temsili makroskobik görünümleri.....	91
Resim 15. Fikse edilmiş olan kolon dokularının görünümü	93
Resim 16. İltihabi infiltrasyon skorları temsili fotoğraflar	96
Resim 17. Hemoraji skorları temsili fotoğraflar	97
Resim 18. Nekroz skorları temsili fotoğraflar.....	98
Resim 19. Ödem skorları temsili fotoğraflar.....	99
Resim 20. Kript apseleri skorları temsili fotoğraflar	100
Resim 21. Goblet hücre kaybı skorları temsili fotoğraflar.....	101
Resim 22. Mukozal yapı kaybı skorları temsili fotoğraflar	102

Resim 23. Kolon duvar kalınlaşması skorları temsili fotoğraflar	103
Resim 24. Sham grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)	104
Resim 25. Sham grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)	104
Resim 26. Sham grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)	105
Resim 27. Sham grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)	105
Resim 28. TNBS grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)	106
Resim 29. TNBS grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)	106
Resim 30. TNBS grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)	107
Resim 31. TNBS grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)	107
Resim 32. MSB10 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)	108
Resim 33. MSB10 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)	108
Resim 34. MSB10 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)	109
Resim 35. MSB10 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)	109
Resim 36. MSB4 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)	110
Resim 37. MSB4 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)	110
Resim 38. MSB4 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)	111
Resim 39. MSB4 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)	111
Resim 40. MSB4x3 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)	112
Resim 41. Resim 41. MSB4x3 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)	112
Resim 42. MSB4x3 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)	113
Resim 43. MSB4x3 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)	113

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tüm grupların ilk gün ve son gün vücut ağırlığı değişimleri	72
Tablo 2. Tüm gruplara ait toplu biyokimya bulguları	73
Tablo 3. Tüm gruplara ait makroskopik skorlama sonuçları	91
Tablo 4. Tüm gruplara ait histopatolojik skorlama tablosu	94

ÖZET

TNBS İLE İNDÜKLENEN DENEYSEL KOLİT MODELİNDE MENADİON (VİTAMİN K3) UYGULAMASININ İNFLAMASYON ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ.

İşler D. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (TIP) Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH)'nin bir türü olan ülseratif kolit, distal kolonu ve rektumu etkileyen aşırı immün yanıt ve oksidatif hasar bileşenlerinden oluşan inflamatuvar bir hastalıktır. Menadion (Vitamin K3), K vitamininin yüksek biyolojik aktiviteye sahip, sentetik türevidir ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiştir. Menadion sodyum bisülfid, vitamin K3'ün suda çözünebilen bir formudur. Çalışmamızda TNBS ile indüklenen kolit modelinde menadionun etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla 40 adet wistar albino sıçan, her birinde 8 hayvan içeren beş gruba ayrılmış ve kolit indüksiyonu, %37'lik etanol çözeltisi içinde çözünmüş olan 25 mg TNBS' nin 0,8 ml hacimde intrarektal uygulanması ile oluşturulmuştur. GRUP I (Sham):0.gün İntrarektal Salin, 3. gün sakrifikasyon, GRUP II (TNBS): 0. gün TNBS, GRUP III (MSB 10): 0. gün TNBS ve i.p. tek doz 10 mg/kg MSB, GRUP IV (MSB 4): 0. gün TNBS ve i.p. tek doz 4 mg/kg MSB, GRUP V (MSB 4X3): 0. gün TNBS ve 4 mg/kg i.p. 3 gün olmak üzere deney protokolü uygulanmıştır ve bütün gruptaki hayvanlar 3. gün sonunda sakrifiye edilmiştir.

Bulgular: Alınan kolon dokusu ve serum örneklerinde, biyokimyasal analizlerde farklı dozlarda MSB uygulaması, TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE2, MPO, MDA, 8-OHdG, TOS, TAS, GSH-px, SOD gibi TNBS ile oluşan inflamasyonun immün ve oksidatif parametrelerinde, ayrıca makroskobik ve mikroskobik parametrelerde MSB4x3 ve MSB10 en etkili gruplar olmak üzere doz süreye bağlı olarak anlamlı iyileşmeler göstermiştir.

Sonuç: Çalışmamız sonucunda menadion (vitamin K3)' n TNBS ile indüklenen kolit modelinde inflamasyon üzerinde hem immün yanıtlar hem de oksidatif bileşenlere bağlı olarak, yüksek düzeyde antiinflamatuvar etkiler göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: İnfamasyon, Kolit, Menadion (Vitamin K3), Sıçanlar, TNBS.

ABSTRACT

THE EFFECTS OF MENADION (VITAMIN K3) APPLICATION ON INFLAMMATION IN TNBS-INDUCED EXPERIMENTAL COLITIS MODEL.

İşler D. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences, Department of Physiology (Medicine), Doctorate Thesis, Aydın, 2025.

Aim: Ulcerative colitis, a type of inflammatory bowel disease (IBD), is an inflammatory disease consisting of excessive immune response and oxidative damage components affecting the distal colon and rectum. Menadione (Vitamin K3) is a synthetic derivative of vitamin K with high biological activity and has been shown to have anti-inflammatory effects. Menadione sodium bisulfite is a water-soluble form of vitamin K3. Our study aimed to investigate the effects of menadione in the TNBS-induced colitis model.

Materials and Methods: For this purpose, 40 Wistar albino rats were divided into five groups of 8 animals each and colitis induction was aimed by reducing 25 mg TNBS dissolved in 37% ethanol solution with 0.8 ml intrarectal volume. GROUP I (Sham): Intrarectal Saline on day 0., sacrifice on day 3., GROUP II (TNBS): TNBS on day 0., GROUP III (MSB 10): TNBS and single dose of 10 mg/kg MSB on day 0., GROUP IV (MSB 4): TNBS and single dose of 4 mg/kg MSB on day 0., GROUP V (MSB 4X3): TNBS on day 0 and 4 mg/kg i.p. for 3 days, the experimental protocol and animals in all groups were sacrificed at the end of the 3rd day.

Results: In the biochemical analyses of the colon tissue and serum samples, MSB application at different doses showed significant improvements in the immune and oxidative parameters of TNBS-induced inflammation such as TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE2, MPO, MDA, 8-OHdG, TOS, TAS, GSH-px, SOD, as well as in macroscopic and microscopic parameters, depending on the dose and time, with MSB4x3 and MSB10 being the most effective groups.

Conclusion: As a result of our study, high level anti-inflammatory effects were shown depending on both immune responses and oxidative treatments on the application of menadione (vitamin K3) in the TNBS-induced colitis model.

Key Words: Colitis, Inflammation, Menadione (vitamin K3), Rats, TNBS.

1. GİRİŞ

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) bağırsağın kronik inflamatuvar durumlarını ifade eden şemsiye bir terimdir ve en sık görülen iki durum Crohn Hastalığı (CH) ve Ülseratif Kolit (ÜK) tir (Broom ve diğerleri, 2009; Head ve Jurenka, 2003). İBH'ler, bağırsak iltihabı ve epitelyal hasar ile karakterize olan gastrointestinal sistemin kronik tekrarlı bozukluklarıdır. Belirgin morbidite ile ilişkili olup, bireyin yaşam kalitesini oldukça etkiler (Neurath, 2014). Ülseratif kolit (ÜK), kolon mukozasının tekrarlayan remisyon döngülerine sahip kronik inflamatuvar bozukluğudur çok faktörlü mekanizmalar yoluyla spesifik olarak kolon ve rektumu etkiler (Nakase ve diğerleri, 2022). Patogenezin altında yatan, kusurlu mukozal bağışıklık sistemidir. Kusurlu mukozal T hücre popülasyonu nedeniyle normal bağırsak mikrobiyota antijenlerine karşı normal efektör T hücreleri düzgün şekilde modüle edilemez ve aşırı bir bağışıklık tepkisinden söz edilir (Strober ve diğerleri, 2007). İnflamasyonun immün boyutu, sitokin üretimi, reseptör aktivasyonu ve nötrofil/makrofaj yanıtları gibi çok katmanlı süreçleri içerir. Bu süreçte özellikle TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler ve MPO gibi enzimler ön plandadır. Deneysel kolit modelleri tedavide IL-1, IL-6 ve TNF düzeylerinin inhibe edilmesine odaklanmaktadır (Neurath, 2014). İnflamasyon, yalnızca bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu ve sitokin üretimiyle sınırlı olmayan, aynı zamanda oksidatif stresin merkezi bir rol oynadığı kompleks bir biyolojik yanıttır. Reaktif oksijen türleri (ROS) inflamatuvar süreçler sırasında yüksek miktarda üretilmekte ve bu moleküller DNA, protein ve lipit gibi hücresel yapı taşlarında hasara yol açarak dokulardaki inflamasyonu daha da şiddetlendirmektedir (Kim ve diğerleri, 2012; Lugin ve diğerleri, 2014). Son yıllarda, bu sürecin merkezinde yer alan oksidatif stres, hem inflamasyonun tetiklenmesinde hem de sürdürülmesinde önemli bir etken olarak öne çıkmaktadır (Bourgonje ve diğerleri, 2020; Rezaie ve diğerleri, 2007). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının (İBH), özellikle de ülseratif kolit tedavisinde, günümüzde hâlen kortikosteroidler ve bazı durumlarda non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların uzun süreli kullanımına bağlı gelişen ciddi yan etkiler ve etkinliğin sınırlı kalması, yeni ve daha güvenli ajanlara olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. İBH'ler için spesifik bir tedavi yoktur ve tedavinin odak noktası destekleyici

önlemler ve anti-inflamatuar ve immünosüpresif ilaçların kullanımıdır (Bruscoli ve diğerleri, 2021).

Bir hapten reaktifi olan 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS)'nin neden olduğu kolit, kolonik mukozanın nötrofiller ve makrofajlar tarafından infiltrasyonu ve sitokinlerin Th1 profili dahil olmak üzere iltihap araçlarının artması ve histolojik özellikleri bakımından insanlardaki ülseratif kolite benzer (Kazi ve Qian, 2009). TNBS kaynaklı kolit modelinde inflamasyonun başlangıç aşamalarında TNF-a, IL-1 β ve IL-6 gibi doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından üretilen sitokinler baskın iken, daha sonra, Th1 ve Th2 ile ilişkili sitokinler sırasıyla erken ve geç fazlarda baskındır (Nakase ve diğerleri, 2022). TNBS' nin etanol ile kombinasyonu yoluyla sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde kolonda TNF-alfa, IL-1 β ve IL-6 düzeyleri artarak, kolondaki epitelyal hücre fonksiyonunu etkiler ve epitelyal hücre ölümüne ve nötrofil agregasyonuna neden olur (Bai ve diğerleri, 2007). TNBS ile indüklenen kolit modelinde gözlenen histopatolojik bulgular, geniş bir inflamatuvar yanıt profiliyle karakterizedir (Antonioni ve diğerleri., 2016). İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, kolit lezyonlarının en temel bulgularından biridir. Başta nötrofiller olmak üzere, lenfositler ve makrofajlar gibi hücreler lamina propriada birikir (Morris ve diğerleri., 1989; Villanacci ve diğerleri, 2021).

K vitaminleri 2- metil-1.4 naftokinon halkası ve değişken alifatik zincir ile benzer bir yapıda olan bir dizi vitamin grubudur (Zheng ve diğerleri, 2021). Menadion olarak da bilinen Vitamin K3, (VK3) Vitamin K'nin sentetik bir versiyonudur. Ayrıca bağırsaktan, oral Vitamin K1'in Vitamin K2'ye dönüştürülmesinde ara üründür (Xie ve diğerleri, 2024). Menadion oldukça kararsız bir bileşiktir. Diğer bir formu olan menadion sodyum bisülfid ise menadionun suda çözünen bir türevidir (He ve diğerleri, 2001). Menadionun nöroprotektif etkileri (Zhang ve diğerleri, 2018), analjezik etkileri (Yang ve diğerleri 2018), antihipotansif etkileri (Lee ve diğerleri, 1999), antibakteriyel (Negri ve diğerleri, 2023), antikanser (Bakalova ve diğerleri, 2020), antiinflamatuvar özellikleri gösterilmiştir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021; Checker ve diğerleri 2011). Menadionun, proinflamatuvar araçların aktivasyonundan sorumlu olan transkripsiyon faktörü nükleer faktör NF-kB ve IL-1 β inhibisyonu yoluyla inflamasyonu azaltarak antiinflamatuvar etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Amiti ve diğerleri, 2019). Ayrıca menadionun farmakolojik etkilerinin redoks döngüsüne katılabilme yeteneğinden kaynaklandığı ve yapısında bulunan kinon halkası ile elektron alıp vererek, ROS üretme yeteneği ile yüksek dozlarda prooksidan, düşük dozlarda antioksidan

özellik gösterebileceği bildirilmiştir (Shertzer ve diğerleri, 1992; McAmis ve diğerleri, 2003). İnflamasyon indükleyicileri ajanlar ile oluşturulan deneysel inflamasyon modellerinde suda çözünebilen vitamin K3 ve K4 vitaminlerinin, inflammasom aktivasyonunu anlamlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada amacımız menadion (Vitamin K3)'ün suda çözünür formu olan menadion sodyum bisülfid (MSB) uygulamasının TNBS ile oluşturulmuş kolit modelinde inflamasyon üzerindeki olası etkilerini immün ve oksidatif bileşenler üzerinden biyokimyasal ve histopatolojik analizler ile çok yönlü ele alarak araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İBH ve Ülseratif Kolit

2.1.1. Etiyolojisi

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) bağırsağın kronik inflamatuvar durumlarını ifade eden şemsiye bir terimdir ve en sık görülen iki durum Crohn Hastalığı (CH) ve Ülseratif Kolit (ÜK) tir (Broom ve diğerleri, 2009; Head ve Jurenka, 2003). İBH'nin en yüksek insidansı Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika' da bulunmuştur. Sanayileşmiş ülkelerde daha yaygındır. Etiyolojisinde çevresel risk faktörlerinin etkili olduğu düşünülmektedir (Burisch ve Munkholm 2015). Sigara içme, beslenme, uyuşturucular, coğrafya, sosyal stres ve psikolojik unsurlar gibi çevresel faktörlerin etkisi kabul edilmektedir (Zhang ve diğerleri. 2014). Ülseratif Kolit (ÜK) etiyolojisinde genetik yatkınlıktan ziyade enfeksiyon hastalıkları, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID), antibiyotikler ve apendektomi gibi çevresel faktörlerden daha fazla etkilendiği düşünülmektedir. Daha yüksek riskler sitokin değiştiren proteinleri kodlayan çeşitli genlerden kaynaklanabilmektedir. ÜK, epitelyal bariyerin işlev bozukluğuna ve bağışıklık tepkilerindeki düzensizliklere neden olan çevresel ve enterobakteriyal faktörlerin kombinasyonu olarak görülmektedir (Nakase ve diğerleri, 2022). Aynı zamanda mikropların epitelyuma ve alttaki katmanlara erişimini kolaylaştıran anahtar proteinlerin mutasyonlarını içeren genetik duyarlılık, luminal antijenik uyarılma gibi çevresel faktörler etkili olmaktadır (Broom ve diğerleri. 2009).

2.1.2. Epidemiyolojisi

Avrupa'da ülseratif kolit görülme oranları 100.000 kişide 2,4 ve 294 arasında değişmektedir (Burisch ve Munkholm 2015). İBH'nin batı ülkelerindeki prevalansı %3'ü aşmaktadır (Ferreira-Duarte ve diğerleri, 2021). Batı toplumlarında yıllık görülme sıklığı

%0,02'ye ve yaygınlığı da %0,5'e kadar çıkmıştır (Hindryck ve diğerleri, 2016). Dünya çapında yaklaşık 5 milyon kişi İBH'den etkilenmekte olup etiyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır (Ma ve diğerleri, 2022). İBH için çoğunlukla 30' lu 40'lı yaş popülasyonlarında teşhis konulsa da 0-90 yaş arası herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir (Burisch ve Munkholm 2015). En yüksek vakalar 15-45 yaşları arasında ortaya çıkar (Hindryck ve diğerleri, 2016). Ülseratif kolitin görülme sıklığı cinsiyete bağlı bir fark oluşturmazsa da erkek hastalarda hafif bir üstünlüğü olduğu bildirilmiştir (Burisch ve Munkholm 2015).

2.1.3. Patogenezi

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), bağırsak iltihabı ve epitelyal hasar ile karakterize olan gastrointestinal sistemin kronik tekrarlı bozukluklarıdır. Belirgin morbidite ile ilişkili olup, bireyin yaşam kalitesini oldukça etkiler (Neurath, 2014). Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı bulaşıcı olmayan sitokin kaynaklı inflamatuvar hastalıklardır (Strober ve diğerleri, 2007). ÜK kapsamı ve şiddeti değişkendir (Hindryck ve diğerleri, 2016). Ülseratif kolit (ÜK), kolon mukozasının tekrarlayan remisyon döngülerine sahip kronik inflamatuvar bozukluğudur ve genetik değişiklikler, çevresel faktörler, mikrobiyota ve mukozal immün düzensizlik ile ilişkili çok faktörlü mekanizmalar yoluyla spesifik olarak kolon ve rektumu etkiler (Nakase ve diğerleri, 2022). Konakçının intraluminal antijenlere karşı düzensiz bağışıklık tepkisinden kaynaklanır (Hindryck ve diğerleri, 2016). Ülseratif kolitin crohn hastalığından farkı sindirim kanalının herhangi bir yerinde görülebilmesinin aksine sadece kolonla sınırlı bir mukozal ve submukozal inflamasyona yol açmasıdır (Nakase ve diğerleri, 2022; Zhang ve diğerleri, 2014). Hastaların çoğunda hastalık rektum ve/veya sol kolonda sınırlı olarak hafif ve orta şiddette seyreder (Hindryck ve diğerleri, 2016). Ülseratif kolit öncelikle kolonu etkileyen rektumu kapsayan ve proksimale ilerleyen mukozanın sürekli inflamasyonudur (Strober ve diğerleri, 2007).

2.1.3.1. İBH patogenezinde İnflamasyonun İmmün Bileşenleri

İnflamatuvar Bağırsak hastalığı (İBH) patogenezinin altında yatan, kusurlu mukozal bağışıklık sistemidir. Kusurlu mukozal T hücre popülasyonu nedeniyle normal bir bağırsak mikrobiyota antijenlerine karşı normal efektör T hücreleri düzgün şekilde modüle edilemez ve aşırı bir bağışıklık tepkisinden söz edilir (Strober ve diğerleri, 2007). ÜK patogenezinde Th17 hücrelerinin rolü ön plandadır. Epitelyal bariyerde bütünlük kaybı, doğuştan gelen mikrobiyal algılama, otofaji ve katlanmamış protein tepkilerine odaklanılır. Doğuştan bağışıklık vücudun patojenik uyarılara, spesifik olmayan şekilde dakikalar ve saatler içerisinde cevap verdiği ilk savunma hattıdır. Epitelyal hücreler, nötrofiller, dentritik hücreler, monositler, makrofajlar ve doğal öldürücü hücreler dahil pek çok hücre tipi aracılık eder (Zhang ve diğerleri, 2014). Sitokinler, haberleşme molekülleri olarak hücreler arası iletişimi sağlayarak inflamasyona aracılık eden çeşitli çözünür polipeptit yapılardır (Coşkun ve diğerleri, 2020).

TNF- α doğal ve kazanılmış bağışıklık, farklılaşma ve apoptoz üzerinde etkili bir sitokindir. Doku hasarı ya da fiziksel stres sonrasında kanda ilk olarak saptanabilir. Otoimmün hastalıklarda, inflamasyonun başlama ve sürdürülme aşamalarında önemlidir. Akut inflamasyonda endotel hücrelerini uyararak, adezyon molekülleri ve göçe neden olan küçük sitokinlerin üretilmesini ve bu yolla enfeksiyon bölgesine nötrofil ve makrofajların yapışmasında rol alır, aynı zamanda hücre içi kaspazları tetikleyerek, apoptozu tetikler (Coşkun ve diğerleri, 2020). TNF- α , inflamatuvar sürecin kilit aracıdır. Hem endotel geçirgenliğini artırır hem de NF- κ B yolunu aktive ederek COX-2 ve iNOS gibi proinflamatuvar genlerin ekspresyonunu artırır. Crohn hastalarında TNF- α düzeyleri, hastalık aktivitesiyle doğrudan ilişkili bulunmuştur ve TNBS gibi deneysel modellerde bu sitokin en sık kullanılan inflamasyon göstergelerinden biridir (Kim ve diğerleri, 2012; Pereira ve diğerleri, 2015). TNF, tümör nekroz faktörü reseptörlerine bağlanır ve ardından NF- κ B'nin hücre içi aktivasyonu ile hücre ölümüne neden olur (Neurath, 2014). Böylelikle Th hücre alt grupları tarafından hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar sitokinler üretilmesi hastalık gelişiminde çok önemlidir (Neurath, 2014). Miyofibroblastlar da önemli bir Tümör nekroz faktörü (TNF) kaynağı olduğu gibi IL-6 gibi

diğer sitokinleri de üretirler. Bağırsak epitel hücrelerinin çoğalması ve genişletilmesi; erozyon ve ülserlerin kapatılması, bağırsak bariyer fonksiyonunu iyileştirilmesi ve mukoza iyileşmesi için hayati öneme sahiptir. Kendi ürettikleri sitokinlere kritik derecede bağıdırlar. Bu sitokinler, hayatta kalma, farklılaşma, antimikrobiyal peptitlerin salgılanmasını kontrol eder (Neurath, 2014).

Son zamanlarda keşfedilen IL-37' nin ise epitelyal hücre ekspresyonunu arttırdığı ve Lamina propria hücreleri tarafından IL-1 β ve TNF üretimini azaltarak kolite karşı koruduğı gösterilmiştir (Neurath, 2014). Deneysel kolit modelleri tedavide IL-1, IL-6 ve TNF düzeylerinin inhibe edilmesine odaklanmaktadır. Kolit ile ilişkili kanser, kolitte artan IL-1 düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir (Neurath, 2014). IL-1 β granüositlerin toplanmasını sağlayarak bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu artırır. IL-1 inflamasyonun sürdürülmesinden ziyade başlatılmasında belirgin bir role sahiptir (Neurath, 2014). IL-1 β , NOD-benzeri reseptör ailesi pirin domain içeren 3 (NLRP3) inflammasomunun aktivasyonu sonrası salınır ve özellikle akut inflamatuvar yanıtın tetikleyicisidir (Lugrin ve diğerleri, 2014). IL-6, bağlandığı reseptör yoluna bağılı olarak hem proinflamatuvar hem de doku koruyucu etkilere sahip olabilir. IL-6, özellikle anti-TNF tedavisine yanıt vermeyen İBH hastalarında terapötik hedef olarak değerlendirilmektedir (Kim ve diğerleri, 2012).

Kolonik inflamasyonda miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinin TNF- α üretimi ile kolere olduğı gösterilmiştir (Camacho-Barguero ve diğerleri, 2007). Miyeloperoksidaz, miyeloid kökenli hücrelerde bulunan bir enzimdir ve gastrointestinal dokulara çoğunlukla nötrofiller olmak üzere granüositlerin infiltrasyonunu gösteren biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılır (Kazi ve Qian, 2009). Miyeloperoksidaz (MPO), özellikle nötrofil aktivitesinin ve oksidatif saldırının bir göstergesi olarak kabul edilir. MPO, hidrojen peroksiti kullanarak hipokloröz asit (HOCl) üretir; bu reaktif türler çevre dokulara zarar verir. TNBS ve DSS gibi kolit modellerinde MPO düzeyleri, inflamasyon şiddetinin dokuya yansıyan biyokimyasal iz düşümüdür (Piechota-Polanczyk ve Fichna, 2014; Pereira ve diğerleri, 2015).

Endojen sinyaller hücre hasarıyla salındığında ROS üretimini artırarak NF- κ B sinyal yollarını devreye soktuğı gösterilmiştir. Bu hem oksidatif stresin hem immün yanıtın iç içe geçtiğı karşılıklı besleyici bir döngü oluşturur (Gill ve diğerleri, 2010). Lamina propria T hücreleri, T hücre reseptörü uyarımına karşı duyarlıdır bu nedenle apoptozu önlemek için

IL-6 ve TNF sinyali gibi ortak uyarıcı faktörlere bağımlıdır. Lamina propria dentritik hücreleri ve makrofajlar, İBH'de antijen sunan ana hücrelerdir. Özellikle IL1- β , IL-6, IL-18 ve TNF gibi yüksek miktarda proinflamatuvar sitokin salgırlar (Neurath, 2014).

Epitelyal bariyer fonksiyonunda değişiklikler, luminal antijenlerin bağırsak duvarına translokasyonuna izin vererek, anormal ve aşırı sitokin yanıtlarına yol açarak mukozada akut hasara neden olur. İBH'de proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik inflamasyonun çözölmesini engelleyerek doku tahribatı ile birlikte hastalığın devam etmesine neden olur (Neurath, 2014). Makrofajlar, T hücreleri ve doğuştan lenfoid hücrelerin alt grupları gibi mukozal bağışıklık hücreleri sitokinler üreterek kommensal mikrobiyota ürünlerine yanıt oluşturlar fakat bu sitokinler aynı zamanda bağırsak dışı hastalıklara (artrit, artalji vb) da neden olabilir. Örneğin karaciğerde akut faz proteinlerinin salınmasına neden olurken, Tümör nekroz faktörü (TNF) artrit ve kaşeksiye neden olabilir. İBH'de, IL-2 ve IL-10 düzenleyici rol oynamaktadır ve eksikliğinde kolit gelişebilir. Sitokin salgılayan hücreler, özellikle dentritik hücreler, nötrofiller, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler, bağırsak epitel hücreleri, doğuştan lenfoid hücreler, mukozal efektör T hücreleri, T yardımcı (Th1, Th2 ve Th17) ve düzenleyici T hücreleri iltihaplı mukozada sitokinler üretir. İBH'de bağırsak duvarında yüksek miktarda T hücresi saptanır ve yüksek miktarda T hücresi kaynaklı proinflamatuvar sitokin salgılanır (Neurath, 2014). Makrofajlar, Th1 ve Th2 yardımcı T hücreleri ve doğuştan lenfoid hücreler tarafından üretilen ve Th17 farklılaşmasıyla ilişkili olan TNF- α , doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık sistemlerini düzenleyen prototip önemli bir sitokindir ve nekroz, anjiyogenez, makrofaj ve T hücre aktivasyonu, epitelyal hasar gibi proinflamatuvar etkiler sergiler ve anti-TNF antikorları bu nedenle mukozal dokularda etki gösterir (Nakase ve diğerleri, 2022). Antijen sunulan saf T hücreleri, proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler üreten T yardımcı hücre alt tiplerine farklılaşır. Lamina propria mukozasında ÜK patolojisine katkıda bulunan IL-17 üreten Th17 hücreleri ve IL-13 üreten Th2 hücreleri sıklıkla bulunur. Ayrıca aynı zamanda Th1 yolu da ÜK patolojisinde de yer alır. Mukozal bariyere bitişik doğuştan lenfoid hücreler efektör sitokinleri salgırlar ve ÜK patolojisini düzenler. İBH patolojisi için gerekli olan IL-8, nötrofillerin bağırsaklara göç etmesini ve bağırsaklara sızmasını indükleyerek epitelyal hücre hasarını indükleyen uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimlerin salınmasına katkıda bulunur (Nakase ve diğerleri, 2022). Ülseratif kolit IL-13 gibi Th2 hücresi ilişkili atipik bir sitokin tepkisine sahiptir. Bu, klasik olmayan doğal öldürücü hücrelerin varlığına

işaret etmektedir. IL-13 fibrozisi teşvik eder. Epitel hücreler arasında sıkı bağlantının bozulmasına ve apoptoza neden olarak mukozal ülserasyonu tetikler. Fakat ülseratif kolit hastalarında IL-13 düzeylerinde artışa rastlanmamıştır (Neurath, 2014; Nakase ve diğerleri, 2022). Son yıllarda önemli bir T hücre alt kümesi olarak kabul edilmiş olan Th17 hücreleri bağırsakta özellikle terminal ileumda bol miktarda bulunur ve mikrobiyota bileşenlerine yanıt olarak artan IL-6 ve IL-23 gibi sitokinler tarafından indüklenir. IL-17, gibi Th17 tipi sitokinler, TNF, IL1- β , IL-6, IL-8' in düzenlenmesi, nötrofillerin toplanması gibi birçok proinflamatuvar işleve aracılık eder (Neurath, 2014). IL-23, Th17 hücrelerinin çoğalması ve bakımı için gereklidir, makrofajlar ve dentritik hücrelerin aktivasyonu nedeniyle aşırı derecede salgılanır (Nakase ve diğerleri, 2022).

Makrofajlar fagositik hücreler olmalarının yanı sıra, sitokinler üreterek diğer birçok bağışıklık hücresi ile işbirliği yaparlar. Makrofaj popülasyonundaki dengesizlik, proinflamatuvar tip 1 ve antiinflamatuvar tip 2 makrofaj alt gruplarının belirli sitokin ve kemokinler üretmesiyle İBH alevlenmesine neden olur (Ma ve diğerleri, 2022). Dendritik hücreler, mezenterik lenf düğümlerindeki saf T hücrelerine bakteriyel antijenler sunar. Antijen sunulan saf T hücreleri, bariyer fonksiyonunun desteklenmesi ve inflamasyonun çözülmesiyle bağlantılı anti-inflamatuvar sitokinlerin yanı sıra kronik inflamasyonu ve doku hasarını tetiklediği öne sürülen proinflamatuvar sitokinleri üreten yardımcı T hücresinin çeşitli alt tiplerine farklılaşır. Aktive edilmiş T hücreleri, mezenterik lenf düğümlerinden kana hareket eder ve burada sürekli olarak dolaşımda bulunurlar. Bu hücreler adhezyon molekülleri etkileşimleri yoluyla lamina propria ve mukozaya göç eder. Ayrıca, bağırsağa yerleşmiş olan T hücrelerine antijenler (çoğunlukla bakteriyel) sunulur ve aktive edilmiş T hücreleri tekrar antijenleri tanır ve patojenin ortadan kaldırılmasına aracılık eden sitokinleri serbest bırakır (Nakase ve diğerleri, 2022). IL-17 nötrofillerin birikmesine katkıda bulunur (Nakase ve diğerleri, 2022). Endotel hücre yapışma moleküllerini hedef alan antikör tedavileri aktifleşmiş T hücrelerinin lamina propriaya göçünü ve bağırsak mukozasına yerleşimini engelleyerek dolaylı olarak iltihabı baskılar (Nakase ve diğerleri, 2022).

İnsan bağırsağı, bağırsak mikrobiyotasını oluşturan bakteri, protozoa, mantar ve virüslerden oluşan trilyonlarca mikroorganizma tarafından kolonize edilir. Sağlıklı bireyler dengeli bir mikrobiyotaya sahip iken bu homeostazdaki bozulmalar (disbiyozis), metabolik ve kardiyovasküler bozukluklar ile kansere kadar çeşitli patolojilere neden olabilir. Enflamasyon, bağışıklık sisteminin enfeksiyon, doku hasarı gibi durumlara karşı verdiği

önemli bir tepkidir (Cheung ve diğerleri, 2020). Bağırsak bakterilerinin ve besin antijenlerinin bağırsak yüzeyinde karşılaştığı ilk bariyer mukoza tabakasıdır (Zhang ve diğerleri, 2014). Çalışmalarda iltihaplı ve iltihapsız mukoza alanları arasında bakteriyel ribozomal deoksiribonükleik asit (DNA) profillerinin fark göstermemesi nedeniyle İBH’de spesifik patojenik bir organizmanın varlığından söz edilmemektedir. Ayrıca hastaların farklı profillere sahip oluğu görülmüştür (Strober ve diğerleri, 2007). Buna rağmen son zamanlarda, E.Coli gibi bakterilerin neden olduğu disbiyozun hem İBH’de hem de kolit ile ilişkili kolorektal kanserlerde inflamasyon ve karsinogeneze ilerleyen bir mukozal bariyer bozulmasına yol açtığına işaret edilmektedir (Quaglio ve diğerleri, 2022).

Mitojenle aktiveleşen protein kinazlar (MAPK), birçok sinyal yolunun başlatıcı kontrolörleridir. MAPK’lerin fosforilasyonu ve aktivasyonu ile diğer protein kinaz hedeflerine bağlanarak uyarır ve gen transkripsiyonunu aktive etmek için çekirdeğe yer değiştirebilir ve hücre göçü gibi diğer eylemleri tetikleyebilir bu yolla düzenlemeye tabi olan nükleer faktör kappa B (NF-kB), bağırsak inflamasyonunda merkezi bir düzenleyicidir. TNF-alfa, IL’ ler gibi sitokinlerin ve Siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi proinflamatuvar proteinlerin transkripsiyonuna yol açar (Broom ve diğerleri, 2009). MAPK sinyal yolu, ÜK patogenezinde oldukça önemlidir ve TNF-alfa ekspresyonunu yükseltir (Bai ve diğerleri, 2007). COX-2 proinflamatuvar araçlara ve mitojen uyaranlara erken bir yanıt olarak ifade edilir. Prostaglandin üretiminin COX-2 aktivitesine bağlı olduğu gösterilmiştir. Kronik kolitte, İNOS aracılı nitrik oksit (NO) üretiminin de çeşitli dokularda dejenerasyon ile bağırsak hasarına katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Hem COX-2 hem de İNOS ekspresyonları, bağırsak epitel hücrelerinde aktive edilmiş MAPK’ leri yukarı doğru düzenler (Camacho-Barguero ve diğerleri, 2007). Son yıllarda yapılan çalışmalar İNOS kaynaklı NO ve COX-2 kaynaklı prostaglandinlerin inflamatuvar bağırsak hastalığında önemli rol oynadığını göstermektedir (Dong ve diğerleri, 2003). Reaktif NO radikali İBH’ de merkezi bir rol oynar (Kazi ve Qian, 2009). TNBS modelinde kolonik dokuda artan NO ve Prostaglandin E2 (PGE₂) ekspresyonları yukarı yönde regüle edilen İNOS ve COX-2 düzeyleri ile uyumlu olarak hem biyokimyasal hem de immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir (Dong ve diğerleri, 2003). COX’ un COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki alt tipi vardır. COX-1 yapısal olarak çeşitli dokularda fizyolojik olaylarda eksprese edilirken, COX-2 ise inflamatuvar koşullarda insanlarda ve deney hayvanlarında indüklenen bir enzimdir (Tanaka ve diğerleri, 2009). Mide için daha güvenli kabul edilen COX-2 inhibitörleri olan

steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID)'lerin teröpatik özellikleri siklooksijenaz COX aktivitesi üzerindeki inhibitör etkilerinden kaynaklanmaktadır. COX, inflamasyonu tetikleyen güçlü bir kapasiteye sahip olan prostaglandinlerin sentezi için gerekli olan bir enzimdir. Fakat prostaglandinlerin müsin üretimini, mukozal hücre büyümesini uyarak aynı zamanda apoptozu engelleyerek ve proinflamatuvar sitokin üretimini engelleyerek mukozayı koruyucu etkiler sergilediği ve kolitin ekzojen prostaglandinlere ön tedavisi ile hafifletilebileceği bildirilmiştir. Bunun yanında COX-1 ve COX-2 seçici tedavilerinin dekstran sülfat sodyum (DSS) kaynaklı koliti şiddetlendirdiği gösterilmiştir (Tanaka ve diğerleri, 2009). COX-2-PGE₂ yolunun epitelyal rejenerasyonda rol oynayabileceği ve ülseratif kolit hastalarına uygulanan COX-2 inhibitör tedavisi alevlenme riskiyle ilişkilendirilmiştir. PGE₂'nin farklılaşma sinyalleri ile kombinasyon halinde müsin indüksiyonunu desteklediği bildirilmiştir (Li ve diğerleri, 2018). Bunun yanında COX-2'nin prostaglandinlerin üretimi yoluyla inflamasyonu ve epitel rejenerasyonu etkilediği bildirilmiştir. Bu yönüyle TNF inhibitörleriyle tedavide direnç neden olduğu bildirilmiştir (Li ve diğerleri, 2018). PGE₂ hücre içi sinyalleme basamaklarının İBH hastalarında düzensiz olduğu ve bu nedenle mikrofloranın daha fazla nüfuz etmesiyle inflamatuvar yanıtı yol açtığı (Broom ve diğerleri, 2009).

Bağırsakta mukus tabakası epitele yönelik bakteri saldırılarından korunmada savunmanın ilk hattı olarak görev yapar. Kolit patogenezinde diğer bir önemli unsur mukus defektleri hastalığın hem nedeni hem sonucu olarak görülmektedir. İç mukus tabakasının geçirgen hale gelmesi anormal bakterilerle temasa yol açabilir. Ülseratif kolitli hastalarda hem hastalık hem de remisyon sırasında geçirgen mukus tespit edilmiştir (Johansson 2014; Johansson ve diğerleri, 2014). Kolon epiteli, goblet hücreleri aracılığıyla bağırsağa salgılanan antimikrobiyal peptitler içeren mukus üretir. Ülseratif kolitte normalde alt tabakalarda olan mukus kirlenir (Gersemann ve diğerleri, 2012). Kolonun akut inflamasyon durumlarında kolinerjik yolların etkisini gösterilmiştir. Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleriyle yapılan başka bir DSS ile kolit çalışmasında koruyucu etkiler göstermiştir (Miceli ve Jacobson, 2003). Yapılan çalışmalar, AChE inhibisyonunun bağırsak mukozasında T hücrelerinin birikiminin artmasına yol açtığını bildirmiştir (Al-Mansori ve diğerleri, 2024). TNBS ile indüklenen kolit modellerinde, asetilkolin reseptör antagonistleri ile yapılan çalışmalarda, NF-kB aktivasyonunun engellenmesi ve TNF-alfa üretiminin aşağı

regülasyonu yoluyla kolinerjik antiinflamatuvar yolun kolon hasarını azaltarak potansiyel bir tedavi hedefi olarak gösterilmiştir (Bai ve diğerleri, 2007).

Normal olarak vücut inflamasyona proinflamatuvar protein ekspresyonunun downregülasyonu ve antiinflamatuvar proteinlerin upregülasyonu ile ve immün hücre yenilenmesini kolaylaştıran vasküler değişikliklerle cevap verir. En bilinen proinflamatuvar belirteçler, interlökinler (IL1-6-8), tümör nekroz faktörü (TNF-) nükleer faktör kB (NF-kB), hücreler arası yapışma molekülleri, prostaglandin E2 (PGE₂) kaynağı COX-2, nitrik oksit (NO) üretimine yol açan nitrik oksit sentaz (iNOS) tır. Bu proinflamatuvarların aşırı üretimi hücre hasarına yol açar (Elsayed ve diğerleri, 2014).

İnsanlarda 30 yıllık kümülatif kolit ilişkili kanser riskinin %18 olduğu tahmin edilmektedir. Ülseratif kolitte önemli bir gösterge bağırsak mikrobiyotasındaki bozulmadır. Doğal ürünlerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkisi önemli bir çalışma alanıdır (Cheung ve diğerleri, 2020).

2.1.3.2. İBH patogenezinde İnflamasyonun Oksidatif Bileşenleri

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH), özellikle Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif kolit (ÜK) olmak üzere gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar hastalıklarıdır. Bu hastalıkların gelişiminde genetik yatkınlık, çevresel faktörler, bağırsak mikrobiyotası ve bağışıklık sistemi arasındaki karmaşık etkileşimler rol oynar. Son yıllarda, bu sürecin merkezinde yer alan oksidatif stres hem inflamasyonun tetiklenmesinde hem de sürdürülmesinde önemli bir etken olarak öne çıkmaktadır (Bourgonje ve diğerleri, 2020; Rezaie ve diğerleri, 2007). İnflamasyon, aktive edilmiş inflamatuvar ve immün hücreler tarafından artırılmış veya abartılmış bir ROS üretimini içeren patojenlere karşı bir "konak savunma" mekanizmasıdır. İnflamatuvar yanıtın bir parçası olarak üretilen ROS, dokuya invaziv bakterilerin temizlenmesini kolaylaştırır, ancak uzun süre üretildiğinde ve kronik inflamasyonla ilişkili bozuklukları destekleyebilir. İnflamasyon oksidan hasarına neden olsa da olayların ters sırası da doğrudur. Bu nedenle inflamasyon ve oksidatif stres ayrılmaz bir şekilde birbiriyle ilişkilidir (Chatterjee, 2016). Nükleer faktör gibi redoks duyarlı (veya ROS tarafından düzenlenen) transkripsiyon faktörleri kappa B (NF-κB), inaktif bir formda olduğunda, hücrelerin sitoplazmasında lokalize olur ve IκB gibi sitozolik proteinlere

bağlanır. Oksidanlar veya ROS, NF-κB kinazının (IKK) inhibitörü olan bir serin kinaz tarafından fosforilasyon gibi IκB proteinlerinin modifikasyonunu yönlendirir ve bu da onun bozunmasına yol açar, böylece NF-κB serbest kalır ve daha sonra çekirdeğe taşınabilir ve burada tek başına veya diğer transkripsiyon faktörleriyle birlikte, inflamatuvar proteinleri ifade eden birkaç genin ekspresyonunu indükler. NF-κB'nin yanı sıra, nükleer faktör 2 (Nrf-2) gibi faktörlerin de ROS düzenlemesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Chatterjee, 2016). İltihaplanma, bağışıklık hücrelerinin (monositler, makrofajlar, lenfositler, polimorf nükleer hücreler (PMN) ve plazma hücreleri) vasküler duvara sızması, bağışıklık hücrelerinin dokuya ekstrasvazasyonu ve bu hücreler tarafından ROS'un salınmasıyla doku hasarına yol açan patolojik bir durumdur. PMN'ler, ROS'u ağırlıklı olarak, NADPH oksidaz 2 enzimi aracılığıyla üretir. Kendiliğinden veya enzimatik olarak üretilen O_2^- (SOD) ile H_2O_2 'ye dönüşür. İnflamatuvar hücreler tarafından üretilen ROS (patojenleri yok etmek için doğrudan oksidatif strese neden olmasının yanı sıra) inflamasyonun artmasına yol açan sinyal yollarını da uyarır. Çeşitli kinazların (veya fosforilasyonu kolaylaştıran enzimlerin) ROS tarafından indüklenen aktivasyonu, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar ve bu da proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin oluşumunu tetikler. Tetiklendikten sonra, bu sitokinler ve kemokinler ROS ürettiği iyi bilinen ilgili reseptörlere bağlanır. Bu nedenle ROS, inflamasyon döngüsünün hem yukarısında hem de aşağısındadır. ROS, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α), interlökinler (IL-1 ve 6) gibi sitokinlerin ve monosit kaynaklı kemokinlerin, makrofaj kaynaklı inflamasyon proteinlerin üretimini kolaylaştırır. Bunların hepsi çeşitli bağışıklık hücresi alt kümelerinin toplanması ve yapışmasında önemlidir. Toplanma ve yapışma, akışı kontrol etmek için sitokin-kemokin gradyanını ve bağışıklık hücresi-damar duvarı etkileşimini düzenleyen karmaşık süreçlerdir. Bu, bağışıklık hücrelerinin dokuya göçünü kolaylaştırarak yapışıklık bağlantılarının bozar. Aktivasyon sonrası, bağışıklık hücreleri oksidanlar ve çeşitli proteazlar salgılar. ROS'un yanı sıra, HOCl gibi diğer serbest radikaller de, iltihaplı ve bağışıklık hücrelerinde oldukça bol bulunan bir enzim olan MPO tarafından H_2O_2 katalize edildiğinde üretilir. Son derece reaktif HOCl, doku hasarına ve işlev bozukluğuna neden olmak için proteinler de dahil olmak üzere çeşitli molekülleri oksitleyebilir (Chatterjee, 2016). Bağırsak mukozasında oksidatif stres, epitel hücrelerin apoptozuna ve bariyer bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Bu durum, lümendeki antijenlerin submukozaya geçişini kolaylaştırarak inflamatuvar hücrelerin göçünü artırır ve inflamasyonu körükler (Karp ve Koch, 2006). Aynı zamanda, oksidatif

stresin epitel hücre hasarına neden olarak bağırsağın mikrobiyal dengesini de bozduğu; bu durumun disbiyoz ve immün disregülasyon ile birlikte inflamasyonun daha da şiddetlenmesine yol açtığı gösterilmiştir (Li ve diğerleri, 2023). Bu ülseratif kolit patogeneğinde, inflamasyon cevabı sırasında aşırı ROS üretiminin oksidatif strese yol açarak inflamasyon lezyonlarının artmasına neden olduğunu gösterir. İnfiltrate edilen nötrofiller büyük miktarda ROS üreterek oksidatif stresi ve proteolitik enzimleri tetikler. Proteolitik enzimler ve ROS endotel hücreleri üzerinde etki ederek hücre hasarına ve ardından epitel bariyer geçirgenliğine ve lümenal patojen invazyonuna neden olur, bu da inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve inflamatuvar hasarı abartır ve sonunda intestinal mukozal nekroza ve ülserasyona yol açar. Bu arada, epitel rejenerasyonu, inflamatuvar yanıtta üretilen mitojenik sitokinlerin ve prostaglandinlerin uyarılması altında ülseratif alanı kaplamaya başlar. Bu durumda, intestinal mukozal hiperemi, ödem ve hiperplazi polipleri ortaya çıkabilir (Wang ve diğerleri, 2016).

İnflamasyon, yalnızca bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu ve sitokin üretimiyle sınırlı olmayan, aynı zamanda oksidatif stresin merkezi bir rol oynadığı kompleks bir biyolojik yanıttır. Reaktif oksijen türleri (ROS), inflamatuvar süreçler sırasında yüksek miktarda üretilmekte ve bu moleküller DNA, protein ve lipid gibi hücresel yapı taşlarında hasara yol açarak dokulardaki inflamasyonu daha da şiddetlendirmektedir (Kim ve diğerleri, 2012; Lugrin ve diğerleri, 2014). Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimiyle birlikte antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kalması sonucu hücresel redoks dengesinin bozulmasıyla ortaya çıkar (Kim ve diğerleri, 2012; Piechota-Polanczyk ve Fichna, 2014). Lipid peroksidasyonu, inflamasyonun oksidatif bacağı açısından önemli bir süreçtir. ROS'un hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitleriyle etkileşimi sonucu malondialdehit (MDA) oluşur. MDA, membran akışkanlığını bozar, hücre bütünlüğünü zedeler ve İBH hastalarında hem serumda hem de kolonik mukozada artmış düzeylerde gözlenmiştir (Karp ve Koch, 2006; Rezaie ve diğerleri, 2007; Pereira ve diğerleri., 2015). İBH hastalarında ayrıca, oksidatif DNA hasarı belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu, oksidatif stresin genetik materyal üzerinde kalıcı hasara yol açabileceğini göstermektedir (Pereira ve diğerleri., 2015). Bununla birlikte, DNA oksidasyonu da inflamasyonun patofizyolojisinde belirleyicidir. Bu belirteç hem insan hem hayvan modellerinde inflamasyonun tanı ve takip parametresi olarak kullanılmıştır (Rezaie ve diğerleri, 2007; Pereira ve diğerleri, 2015).

Serbest radikallerin etkili olduğu bir diğerk yapı proteinlerdir. ROS aracılığıyla gerçekteşen protein karbonilasyonu, enzim fonksiyonlarını ve yapısal protein bütünlüğünü bozmakta; bu da hücresele sinyale yollarında aksamalara ve bağışıklık cevabında sapmalara neden olmaktadır (Karp ve Koch, 2006; Bourgonje ve diğerkleri, 2020). Oksidatif stresin doğrudan bağışıklık sistemiyle ilişkili olduğu ve özellikle nükleer faktör kappa B (NF-κB) ve MAPK gibi sinyale yollarını aktive ederek proinflatuvar gen ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Gill ve diğerkleri, 2010; Lugrin ve diğerkleri, 2014). Ülseratif kolitin patogeneğinde ve alevlenmesinde oksidatif stres önemli bir risk faktörüdür ve inflamasyonu DNA hasarına doğru yönlendirerek karsinojeneze yole açan ana faktördür (Shen ve diğerkleri, 2019). Kolondaki lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyleri test edilir (Kazi ve Qian, 2009).

Bütün bu oksidatif süreçlere karşı vücudun savunması antioksidan sistemler üzerinden yürütülür. Bu sistemin başlıca elemanları arasında süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve glutatyon (GSH) yer alır. İBH hastalarında bu antioksidanların aktivitesinin düştüğü, özellikle GSH düzeyinin azaldığı, SOD ve GSH-Px aktivitesinin inhibe olduğu birçok çalışmayla gösterilmiştir (Karp ve Koch, 2006; Piechota-Polanczyk ve Fichna, 2014; Kim ve diğerkleri, 2012). Özellikle kolonik epitel, düşük bazal antioksidan kapasiteye sahip olduğu için oksidatif hasara karşı daha duyarlıdır. Kolit modellerinde de MDA, 8-OHdG ve MPO gibi belirteçlerin anlamlı şekilde arttığı, GSH, SOD ve GSH-Px gibi savunma faktörlerinin ise azaldığı raporlanmaktadır (Rezaie ve diğerkleri, 2007; Bai ve diğerkleri, 2019; Pereira ve diğerkleri, 2015). Ayrıca, İBH hastalarında serumda bulunan serbest tiyole düzeylerinin düşük olması, sistemik oksidatif stresin inflamasyonla birlikte seyredebildiğini göstermektedir (Bourgonje ve diğerkleri, 2020). Bu bağlamda, redoks dengesinin korunması ve oksidatif hasarın önlenmesi için geliştirilen antioksidan temelli tedavi stratejileri gün geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır. Fare modellerinde antioksidan savunma sisteminin bozulması, sadece inflamasyonun ağırlaşmasına değil, aynı zamanda hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Rezaie ve diğerkleri, 2007). Bu nedenle, redoks homeostazını destekleyen yaklaşımlar hem korunma hem de tedavi açısından umut vaat etmektedir.

Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) transkripsiyon faktörü, Heme oxygenase-1 (HO-1), süperoksitdismutaz (SOD), glutatyon (GSH) gibi antioksidan savunma sistemlerini aktive ederek epitel hasarını azaltmakta ve NF-κB gibi proinflatuvar

sinyalleri baskılamaktadır. Nrf2 eksikliği olan hayvanlarda kolitin daha şiddetli seyrettiği; proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) arttığı gösterilmiştir. Nrf2, ayrıca regülatör T hücreleri (Treg) hücrelerini artırarak immün regülasyonu da sağlamaktadır (Peng ve diğerleri, 2023).

Tüm bu veriler, oksidatif stresin İBH'nin yalnızca eşlikçisi değil, patogeneizde etkin rol oynayan bir tetikleyici olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, oksidatif stresin baskılanmasına yönelik antioksidan destekli tedavi stratejileri, İBH yönetiminde geleceğin umut vadeden yaklaşımları arasında yer almaktadır (Rezaie ve diğerleri, 2007). Sonuç olarak, inflamasyonda oksidatif ve immün bileşenler birbirinden bağımsız değil, aksine birbirini tetikleyen ve sürdüren bir yapıda çalışır.

2.1.4. İBH' de Klinik, Tanı ve Tedavi

Ülseratif kolit (ÜK) esas olarak kolon mukozasında oluşur, CH ise gastrointestinal sistemi herhangi bir düzeyde etkileyebilir. ÜK, kolon ve rektumun iç astarında inflamasyon ve ülserasyona neden olur ve genellikle ishal, iştahsızlık/kilo kaybı, karın ağrısı, yorgunluk ve anemi ile kendini gösterir. İnflamasyon düzeyi hastalığın şiddetini ve sonraki tedavi stratejisini belirler. CH ise gastrointestinal sistemin tüm bölümlerini etkileyebilen ancak esas olarak terminal ileum, çekum, perianal bölge ve kolonu etkileyen inflamatuvar hastalıktır (Bruscoli ve diğerleri, 2021). ÜK' in klinik belirtileri arasında tipik olarak rektal kanama, ishal, tenesmus ve bazen de hafif karın ağrısı yer alır (Hindryck ve diğerleri, 2016). Bunun yanında kilo kaybı, ateş, yorgunluk gibi belirtilerde gösterir (Strober ve diğerleri, 2007, Head ve Jurenka, 2003). Kolitin klinik seyrinde tutarsız dışkılama, gaitada gizli veya görünür kanlı ishal yer alır ve yaklaşık 2 hafta sürer (Antoniou ve diğerleri, 2016). Ülseratif kolit için tıbbi öykü, bağırsak dışı bulgularla birlikte klinik değerlendirme, tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C-reaktif protein (CRP), dışkı mikrobiyolojisi, ultrason ve mukozal endoskopileri içerir (Meier ve Sturm, 2011) Ülseratif kolit hastaneye yatış, vücut sıvıları ve elektrolitlerinin düzeltilmesi ve gerekirse beslenme desteği gerektiren yaşamı tehdit eden bir durumdur ve ilk basamak tedaviler intravenöz uygulanan kortikosteroid tedavileridir (Hindryck ve diğerleri, 2016). İBH, tekrarlayan venöz tromboemboli gelişimi için bir risk faktörüdür ve alt ekstremitelerde derin ven

tromboproflaksiyi gündeme getirmektedir. Birçok hasta ishal nedeni ile hipokalemik hale gelir ve bu nedenle intravenöz potasyum tedavisi uygulanır. Aynı zamanda hipovolemiyi düzeltmek için ise sıvı replasmanı yapılır. Antibiyotik tedavileri bakteriyal enfeksiyon olmadığında kortikosteroidlere yardımcı olarak rutin uygulanması önerilir fakat steroidlere ek sonuçları iyileştirdiği gösterilmemiştir. Kortikosteroidler, NF-kB aktivasyonunu azaltarak TNF gibi proinflamatuvar sitokinleri düzenler. Steroid tedaviye verilen yanıtı izlemek için fizyolojik olarak; dışkı hızı, kalp hızı, sıcaklık, rektal kanama gibi parametreler takip edilirken, biyokimyasal olarak C-reaktif protein (CRP) seviyeleri, hemoglobin, albümin, trombosit sayısı takip edilir. Bunun yanında endoskopik olarak derin kolon ülserasyonlarının varlığı gibi belirteçler, hastalık ciddiyeti ile ilişkilendirilir. İntravenöz uygulanan anti-TNF antikoru tedavisi etkili bulunmaktadır. Kolorektal cerrahi kapsamında kolektomi küratif bir tedavi olarak hastaneye başvuru anından itibaren önerilmektedir (Hindryck ve diğerleri, 2016). Ülseratif kolit intravenöz kortikosteroidlerle birinci basamak tedaviler almakta fakat sadece %40' ında etkili olmakta, kolektomi ile birlikte %30' unda etkili olmaktadır (Jakobovits ve Travis, 2006). Ülseratif kolitin fenotipi olarak, hastaların yaklaşık üçte biri rektumla sınırlı bir hastalıkla ve üçte biri rektumun bir kısmıyla sınırlı bir tutulumla ortaya çıkmaktadır (Burisch ve Munkholm 2015). İBH hastalıklarında immünosüpresif tedaviler doza ve zamana bağlı olarak malignitelerin oluşumunu kolaylaştırabilmektedir (Burisch ve Munkholm 2015). Ana hedef antiinflamatuvar tedaviye olan ihtiyaca ve dolayısıyla majör efektör sitokinlere odaklanır. En kabul görmüş standart yaklaşım TNF blokajlarıdır (anti-TNF) (Neurath, 2014, Nakase ve diğerleri, 2022, Strober ve diğerleri, 2007). Moleküler hedefli tedavilere rağmen indüksiyon fazı sırasında tedaviye dirençli ÜK'li hastaların oranı %33-55 arasındadır (Nakase ve diğerleri, 2022).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının (İBH), özellikle de ülseratif kolit gibi alt tiplerinin tedavisinde, günümüzde hâlen kortikosteroidler ve bazı durumlarda non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların uzun süreli kullanımına bağlı gelişen ciddi yan etkiler ve etkinliğin sınırlı kalması, yeni ve daha güvenli ajanlara olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. İBH'ler için spesifik bir tedavi yoktur ve tedavinin odak noktası destekleyici önlemler ve anti-inflamatuvar ve immünosüpresif ilaçların kullanımınıdır (Bruscoli ve diğerleri, 2021).

Glikokortikoidler (GK)'ler, laboratuvar da sentezlenebilen ve yaygın olarak kullanılan kortizol, kortizon, kortikosteron gibi endojen moleküllerdir. IL-1, TNF ve IL-6

gibi sitokinler tarafından aktive edildiğinde, hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksı, GK'lerin üretimini ve salgılanmasını tetikler, inflamasyon üzerinde etki eder ve böylece doğuştan ve adaptif bağışıklık sisteminin bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu, göçünü ve çoğalmasını engeller. MAPK yolu ve NF-kB transkripsiyonel aktivitesine müdahale ederek ve sonuç olarak inflamatuvar ve immün aracılı reaksiyonları düzenler (Bruscoli ve diğerleri, 2021). Glukokortikoid tedavisinin faydalı anti-inflamatuvar etkisi tartışmasızdır, ancak neredeyse her vücut dokusu glukokortikoid reseptörleri içerdiğinden ve bu hormonlar için potansiyel bir hedef olduğundan, bu ilaçları alan hastalarda çok sayıda istenmeyen toksik etki de ortaya çıkabilir. Hem ilaç kesilmesinden hem de yüksek doz tedaviden kaynaklanan iki farklı yan etki profili ortaya çıkarır. Ateş, miyalji, artralji ve halsizlikten oluşan karakteristik bir kortikosteroid yoksunluk sendromuna neden olabileceği gibi uzun süreli kortikosteroid tedavisi, hipofiz-adrenal ekseninin baskılanmasına neden olabilir ve normale dönmesi bazı hastalarda dokuz aya kadar sürebilir. Ayrıca, hipertansiyon, hiperglisemi, immünosupresyon, peptik ülser, osteoporoz, miyopati, davranış bozuklukları, posterior subkapsüler katarakt, büyüme inhibisyonu ve Cushing sendromudur. Genç hastalar özellikle büyüme geriliği, osteoporoz ve katarakt gibi bazı büyük komplikasyonların gelişme riski barındırır (Kusunoki ve diğerleri, 1992). Kortikosteroidler, genellikle remisyonun idamesinde yetersiz kalmakta ve hastaların önemli bir kısmında bağımlılık veya tedaviye direnç gelişmektedir (Dubois-Camacho ve diğerleri, 2017). Bu ilaçlar; osteoporoz, hiperglisemi, hipertansiyon, ruhsal bozukluklar, HPA aks baskılanması, glokom, enfeksiyonlara yatkınlık gibi çok sayıda sistemik yan etkiye yol açmaktadır (Bruscoli ve diğerleri., 2021; Buchman, 2001; Dorrington ve diğerleri, 2020). Ayrıca kortikosteroid kullanan İBH hastalarında venöz tromboemboli riskinin anlamlı ölçüde arttığı, bu etkinin yalnızca inflamasyonla değil, doğrudan pro-trombotik etkilerle ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Székely ve diğerleri, 2024). Bu bulgular ışığında, son kılavuzlarda kortikosteroidlerin yalnızca kısa süreli kullanılmaları ve mümkünse erken dönemde biyolojik ajanlara geçilmesi önerilmektedir (Quera ve diğerleri., 2023).

NSAID'ler ise non-selektif olarak COX-1 ve COX-2'yi inhibe ederek inflamasyonu baskılayan ilaçlardır. Ancak bu ilaçlar, gastrointestinal mukozada ciddi hasara, ülserasyonlara ve kanamalara yol açabilir (Kankuri ve diğerleri, 2001). Bu nedenle kolit tedavisinde klasik NSAID'lerin kullanımı risklidir. Kankuri ve diğerleri (2001), indometazin ve aspirin gibi klasik NSAID'lerin TNBS kolit modelinde ödemi veya nötrofil

infiltrasyonunu azaltmada etkisiz olduğunu göstermiştir. Ayrıca deksametazon dahil hiçbir ajan mukozal ülser boyutunu azaltmamıştır (Kankuri ve diğerleri, 2001). COX-2 selektif inhibitörlerinin teorik olarak daha güvenli olması beklenmişse de bu ajanın COX-2 haberci ribonükleik asit (mRNA) ekspresyonunu azalttığı ancak hem makroskobik hem de histolojik iyileşme sağlamadığı gösterilmiştir. Tüm sıçanlarda ciddi ishal, kolon kalınlaşması ve ülseratif inflamasyon devam etmiştir (Paiotti ve diğerleri, 2009). NSAID kullanımının kolit üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri nedeniyle NSAID kullanımından kaçınılması ve bunun yerine ağrı yönetimi için parasetamol kullanmaları teşvik edilmektedir. NSAID kullanımı ile İBH alevlenmesi arasındaki bağlantıyı incelenmiş olsa da sonuçlar çelişkilidir (Moninuola ve diğerleri, 2018).

Beslenme yoluyla alınan doğal antioksidanlar da bu süreçte önemli rol oynamaktadır. Vitamin C, E, polifenoller ve flavonoidler gibi bileşikler yalnızca ROS nötralizasyonunu artırmakla kalmaz, aynı zamanda bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etki yaparak epitel bariyer bütünlüğünü koruyabilir. Bu sayede inflamasyon döngüsü baskılanabilir ve bağırsak sağlığı desteklenebilir (Li ve diğerleri, 2023).

Kolit tedavisinde hâlâ klasik tedavilerin yaygın olduğunu ancak küratif sonuçların elde edilemediği, bu nedenle hastalığın patogeneze yönelik yeni stratejilere yönelmenin gerekliliğini vurgulanmaktadır (Ferretti ve diğerleri, 2022). Kortikosteroid ve NSAID'lerin sınırlılıkları sadece etkinlik düşüklüğüyle değil; aynı zamanda ciddi metabolik, nörolojik, endokrin, enfeksiyöz ve hematolojik komplikasyonlarla da ilgilidir (Buchman, 2001; Dorrington ve diğerleri, 2020; Székely ve diğerleri, 2024). Bu durum, inflamasyonun yalnızca prostaglandin ve sitokin düzeyinde değil, aynı zamanda redoks dengesizlik ve epitel bütünlük kaybı ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

2.2. DeneySEL Kolit Modelleri

TNBS ve DSS, en çok bilinen kolit modellerindendir (Antoniou ve diğerleri, 2016). Kolit modellerini indüklemek için en çok kullanılan kimyasallar, Th1 tepkisini destekleyen 2,4,6-trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) ve Th2 tepkisini destekleyen dekstran sülfat sodyum (DSS) dir (Modesto ve diğerleri, 2022).

DSS ile indüklenen kolit ve TNBS ile indüklenen kolit modelleri, İBH'yi indüklemek için en yaygın şekilde kullanılır. DSS'nin kullanımı kolaydır ve insanlarda iltihaplanmayı tetikleyerek ülseratif kolite benzeyen sonuçlar elde edilir, içme suyuna eklenerek kullanılır. Akut veya kronik kolit modeli ve ciddiyeti, doza ve uygulama süresine göre değişir (Modesto ve diğerleri, 2022). DSS kolonik inflamasyona yol açan bir toksin olarak, antijen ve luminal bakterilerin bağırsak mukozasına girmesine ve enfeksiyonun yayılmasına neden olur. Aynı zamanda ilerleyici kriptaların kaybı söz konusu olduğundan İBH'deki lamina probria hücrelerinin aksine epitelyal hücreler üzerine doğrudan bir etkisi vardır. En yaygın uygulama iyileşme dönemleri ile tekrarlanan 3-5 döngüde içme suyuna %2-10 aralığında ilavesiyle DSS' ye maruz bırakmaktır. Fakat hayvanların farklı miktarda tüketimi bir dezavantajdır ve döngü sayısının fazlalığı ölümlere yol açabilir (Lee ve diğerleri, 2023).

2.2.1. TNBS ile İndüklenen Kolit Modeli

Bir hapten reaktifi olan 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS)'nin neden olduğu kolit, kolonik mukozanın nötrofiller ve makrofajlar tarafından infiltrasyonu ve sitokinlerin Th1 profili dahil olmak üzere iltihap araçlarının artması ve histolojik özellikleri bakımından insanlardaki ülseratif kolite benzer (Kazi ve Qian, 2009). TNBS için en bilinen yöntem etanol ile birlikte TNBS' nin rektal olarak uygulanmasıdır. Etanol bağırsak duvarı bariyerini kırmak için bir araç olarak görev yapar. TNBS ise ciltle temas eden bir hapten görevi görür. Molekül ağırlığının fazla olması immünolojik tepkilerin ortaya çıkmasına neden olur. Tek bir uygulama akut Th1 inflamasyonunu yansıtır. Th1 inflamasyonu CD4⁺T hücrelerinin kolonda yoğun bir infiltrasyonunu ve proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını içerir (Antonίου ve diğerleri, 2016). TNBS modeli, bağırsak iltihabının kolayca uyarılabilen, hızlı, güvenilir, sağlam ve yüksek oranda tekrarlanabilirliğe sahip bir hayvan modelidir. Hastalığın indüksiyonu hızlı bir şekilde meydana gelir ve TNBS' de inflamasyon intrarektal uygulamadan 4 ila 7 gün sonra ortaya çıkar ve en fazla yaklaşık 8 hafta boyunca yavaş yavaş kronik bir yapıya doğru ilerler. Kronik TNBS kaynaklı kolit modelinin protokolleri, TNBS dozu, TNBS uygulamasının derinliği, hayvan türü ve süreye göre değişir. Ayrıca dört haftalıktan daha küçük hayvanlarda inflamasyon şiddeti hayvanların ölümüne neden olabilmektedir (Modesto ve diğerleri, 2022). TNBS

bağırsakta fibrotik süreçleri incelemek için daha çok kullanılır. İnflamasyon akut ve kronik olarak indüklenebilir. Düzenli kronik uygulamalarında adenokarsinomu tetikleyebilmektedir. 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), insanlarda T hücresi aracılı transmural kolite neden olabilir ve öncesinde intrarektal etanol uygulaması ile bağırsak mukozasına zarar verilerek duyarlılaştırma sağlanır. Böylelikle TNBS bağırsak duvarına kolayca nüfuz edebilir. Daha sonra kolonik veya mikrobiyotadan türetilmiş proteinlerin haptenizasyonu, B hücrelerinin ve Th1 tipi yanıtları oluşturur. Tek doz rektal uygulama, Th1 ile ilişkili sitokinlerin aktivasyonu ve 2 saat içerisinde iltihabi hücrelerin infiltrasyonu ile akut enflamasyona neden olmaktadır. İndüksiyondan yaklaşık 6 gün sonra ikinci TNBS dozu ile gecikmiş tip aşırı duyarlılık tetiklenebilir. TNBS konsantrasyonu için önerilen dozlar değişkenlik gösterse de genel olarak farelere, 3 günlük rektal lavmandan sonra ötenazi yapılır. IL-17 ve IL-23 seviyelerinin artışı ile karakterize olan kronik koliti indükleyebilmek için yaklaşık 45 ila 49 gün süren haftalık rektal TNBS lavmanı gereklidir. Aynı zamanda 6 haftalık doz uygulaması fibrozisi de indükler. TNBS'nin indüklediği fibrojeniz aynı zamanda NF- κ B aktivasyonuna da bağlıdır. TNBS modelinin avantajı, deneysel uygulamanın kolaylığı ve kolitin belirli özelliklerinin varlığıdır. Fakat bu modelde, TNBS lavmanının rektal uygulanması nedeniyle inflamasyon distal kolonda kısıtlanabilir, ayrıca kullanılan murin suşları arasında farklılıklar olabilir (Lee ve diğerleri, 2023). 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) modeli maliyet etkinliği, kolay indüksiyon ve geniş doku çeşitliliği nedeniyle kolit indüklemek için yaygın olarak kullanılır. TNBS modelinde bağırsak epitelyal hücre bariyerini bozmak için ve TNBS'nin bağırsak duvarına nüfuz etmesini ve konakçı bağışıklık sistemi tarafından bir hedef olarak tanınmasını sağlamak için alkol gereklidir bu nedenle, etanolik bir çözelti şeklinde rektal olarak damlatılır (Ferreira-Duarte ve diğerleri, 2021). Bu modelde kolit şiddeti ve etkilenim düzeyini analiz etmek için bazı mikroskobik, makroskobik ve fizyolojik değişiklikler incelenir (Ferreira-Duarte ve diğerleri, 2021). Kolitin fizyolojik izlenmesinde vücut ağırlığı, yiyecek ve sıvı alımı, dışkı miktarı gibi parametreler takip edilir (Ferreira-Duarte ve diğerleri, 2021). TNBS modelinde hayvanlarda piloereksiyon ve hareket kaybı gözlenir. Kolitin başlangıç ve şiddeti, hayvan türüne ve etanol ile TNBS dozuna göre değişmektedir. 3. güne kadar vücut ağırlığında azalma, daha sonra artmaya başlar fakat TNBS ile başlangıç ağırlığına dönemez. Ayrıca ölüm oranı 8. Günde % 55'e ulaşmıştır (Antoniou ve diğerleri, 2016). TNBS uygulamadan önce 12- 24 saatlik bir oruç

gereklidir. Hafif eter anestezisinden sonra dozu ayarlanmış TNBS, uygun bir poliüretan katater ile anal eşikten 4-8 cm proksimale girilerek verilir. Hayvanlar uygulamadan sonra birkaç dakika başaşağı tutulur. Genel olarak kullanılan dozlar 50-150 mg/ kg aralığındadır. Model kurucusu tarafından (Morris ve diğerleri, (1989) 100 mg/ kg olarak uygulanmıştır. Etanol konsantrasyonu ise % 30-50 arasında değişmektedir. 50 mg/ kg çok düşük şiddette kolit (kilo kaybı olmaksızın), 150 mg/ kg ise aşırı inflamatuvar reaksiyona neden olarak %20-30'luk ölüm oranı ile çok yüksek şiddette kolit oluşturur (kilo kaybı %10'dan % 20' ye çıkar). 100-150 mg/ kg arasında belirgin fark bulunamamıştır. 100 mg/ kg uygulama yaklaşık %65 fokal hiperemi ve ülserasyonlar ile birlikte kolonda kalınlaşma göstermişlerdir. Genel olarak kolit düzeyi zayıf, orta, güçlü ve şiddetli olarak 4 gruba ayrılır (Antoniou ve diğerleri, 2016). TNBS koliti anti-TNF- alfa, kortikosteroidler, doğal bileşikler ve geleneksel tıp uygulamalarının kolit immünopatogenezinde araştırılması için tercih edilen ucuz bir yoldur. Model basit, düşük ve maliyetli ve tekrarlanabilirliği yüksektir. Bazı doğal sınırlılıkları nedeniyle hastalık tablosunun tam olarak yansıtmasa da güçlü bir modeldir (Antoniou ve diğerleri, 2016).

2.2.2. TNBS ile kolit modelinde biyokimyasal ve histolojik mekanizmalar

TNBS kaynaklı kolit modelinde en önemli sitokinler TNF- α ve IL-12' dir. Tedavide anti IL-12'ler önerilmiştir. Ayrıca IL-23 reseptörü koruyucu rol oynamaktadır. Th17 hücreleri IL-17 üreten lenfoid hücreler indükler. IL-17 reseptörü yokluğu TNBS' ye karşı direnç oluşturmuştur. IL-17 reseptörü olmayan fareler vahşi tip farelere göre daha az kilo kaybına uğramışlardır. IL-23, Th 17 ve mukozal T foliküler yardımcı hücrelerden salgılanır ve koruyuculuğu yüksektir (Antoniou ve diğerleri, 2016). Ayrıca, IFN- γ , IL-12 ve IL-23 üretiminin arttığı görülür. IL-12 inflamasyonu tetiklerken, IL-23 daha sonraki kronik inflamasyonda etkili olur. İnflamasyonun başlangıç aşamalarında TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından üretilen sitokinler baskın iken, daha sonra, Th1 ve Th2 ile ilişkili sitokinler sırasıyla erken ve geç fazlarda baskındır. Dolayısıyla Th17 ile ilişkili sitokinler muhtemelen ÜK'nin her iki fazında da rol oynar (Nakase ve diğerleri, 2022). TNBS' nin etanol ile kombinasyonu yoluyla sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde kolonda TNF-alfa, IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin arttığı hem elisa

testinde hem de mRNA aktivitesi analizlerinde gösterilmiştir. IL-6 ve IL-1 β kolondaki epitelyal hücre fonksiyonunu etkileyerek, epitelyal hücre ölümüne ve nötrofil agregasyonuna neden olur (Bai ve diğerleri, 2007). Akut inflamasyonda proinflamatuvar sitokinler şiddetli, kronik inflamasyonda ise daha zayıftır. TNBS ile 4 haftalık maruziyet ile kronik bir ülseratif kolit modeli oluşturulabileceği gösterilmiştir (Silva ve diğerleri, 2022). TNBS, etanol ile birlikte rektal olarak uygulandığında, kolon mukozasında bariyer hasarına neden olur. Bu hasar, TNBS'nin kolon proteinleriyle reaksiyona girerek haptene-protein kompleksleri oluşturmaya olanak tanır. Bu kompleksler, bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınır ve güçlü bir Th1 tipi bağışıklık yanıtını tetikler. Sonuç olarak, CD4⁺ T hücreleri, makrofajlar ve nötrofiller gibi inflamatuvar hücreler kolon dokusuna infiltre olur. Bu hücreler, TNF- α ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinler salgılayarak inflamasyonu sürdürürler. Bu süreç, mukozal ülserasyonlara, nekroza ve kanamaya yol açabilir (Antoniou ve diğerleri, 2016; Morris ve diğerleri, 1989). Özellikle ilk 1–5 gün arasındaki değişiklikler modelin akut fazını temsil eden süreçte gelişen histopatolojik bulgular, yalnızca mikroskobik bulgular değil, aynı zamanda altta yatan hücresel ve moleküler mekanizmaları da yansıtır.

TNBS ile indüklenen kolit modelinde gözlenen histopatolojik bulgular, geniş bir inflamatuvar yanıt profiliyle karakterizedir. En dikkat çeken bulgulardan biri, inflamasyonun sadece mukozada sınırlı kalmayıp transmural olarak, yani submukozadan muskularis propria'ya ve hatta serozaya kadar yayılmasıdır (Antoniou ve diğerleri., 2016). İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, kolit lezyonlarının en temel bulgularından biridir. Başta nötrofiller olmak üzere, lenfositler ve makrofajlar gibi hücreler lamina propriada birikir. Bu infiltrasyon mukozayla sınırlı kalabileceği gibi, submukozaya ve kas tabakasına kadar ilerleyebilir (Morris ve diğerleri., 1989; Villanacci ve diğerleri, 2021). Submukozal dokuda gelişen ödem, inflamasyon sırasında damar geçirgenliğinin artmasıyla interstisyel alanda sıvı birikmesi sonucu oluşur. Bu, histolojik olarak submukozada boşluklar, kollajen liflerinde ayrışma ve lenfatik distansiyon şeklinde değerlendirilir (Kellermann ve Riis, 2021). Epitel bütünlüğünün bozulması, yüzey epitelinde dökülme (deskuamasyon), düzensizlik ve hücreler arası bağlantıların kaybıyla karakterizedir. Apoptoz ve inflamatuvar hücre saldırısı bu duruma neden olur (Cerilli ve Greenson, 2012; Zhu ve diğerleri, 2020). Bu durum, mukozal bariyerin kaybı ve antijen geçişinin kolaylaşması anlamına gelir.

Aynı zamanda kript distorsiyonu, kript apseleri, ülserasyon ve goblet hücre kaybı gibi mukozal bütünlük bozuklukları da belirgin şekilde tanımlanmıştır. Bu parametreler, özellikle inflamasyonun şiddetli olduğu akut fazda öne çıkmaktadır. Histolojik değerlendirmelerde kriptlerin lümeninde nötrofillerin biriktiği ve bu nedenle apselerin olduğu gözlenmiştir (Antoniou ve diğerleri, 2016). Kolonik kriptler (Lieberkühn kriptaları), kalın bağırsak mukozasında yer alan, epitel hücrelerinden oluşmuş tübüler yapıdaki invajinasyonlardır. Kriptler, epitel hücrelerinin yenilenme yeridir; kök hücreler burada bulunur ve yukarı doğru farklılaşarak epitel tabakasını oluşturur (Barker, 2014). Kriptlerin içinde mukus üreten goblet hücreleri, absorptif kolonositler ve nadiren enteroendokrin hücreler yer alır. Bu yapı, mukozal bariyerin devamlılığını sağlar ve intestinal homeostazın korunmasında kritik rol oynar (Van Der Flier ve Clevers, 2009).

Kript yapılarında gözlenen bir diğer önemli bulgu ise kript apsesidir. Akut inflamasyonun yoğun olduğu alanlarda nötrofiller kript lümenine göç eder ve burada birikir. Bu, mikroskop altında kript içi yoğun nötrofil infiltrasyonu olarak izlenir ve inflamasyonun aktifliğini yansıtır (Treuting ve Hsu, 2017; Sokol ve diğerleri, 2010). Epitel hücre yenilenmesinin merkezi olan kolonik kriptler, inflamasyon sırasında distorsiyon, atrofi veya dilatasyon gibi yapısal bozulmalara uğrayabilir. Bu durum kript yıkımı olarak tanımlanır. Kriptlerdeki bu deformasyon, kök hücre döngüsünün bozulmasıyla ilişkilidir ve kronik hasarın önemli bir göstergesidir (Kellermann ve Riis, 2021; Cerilli ve Greenson, 2012).

Goblet hücreleri, kolonik mukozada bulunan ve mukus salgılayarak epitel yüzeyini koruyan özelleşmiş epitel hücreleridir. İnflamasyonun epitel hücrelerini hedef almasıyla birlikte goblet hücre kaybı da dikkat çeker. Goblet hücreleri, mukus üretiminden sorumludur ve inflamasyon sırasında mukus granüllerini hızla boşaltarak sönükleşir veya apoptoza uğrayarak tamamen ortadan kaybolabilir (Yang ve Yu, 2021; Specian ve Oliver, 1991). Bunun sonucunda epitelde düzleşme ve mukozal yüzeyin savunma kapasitesinde azalma gözlenir. Kolitte, özellikle TNBS ile indüklenen deneysel kolit modelinde, goblet hücrelerinde belirgin bir azalma görülmektedir. Bu kayıp hem hücre ölümü hem de farklılaşma basamaklarındaki bozulmalarla ilişkili iki temel mekanizmaya bağlanır. İlk olarak TNBS kolit modelinde gelişen inflamatuvar yanıt sırasında epitel bariyeri, reaktif oksijen türleri (ROS), TNF- α , IL-1 β gibi sitokinlerin etkisiyle hasar görür. Bu hasar, yüzeyel epitelde yer alan goblet hücrelerinin nekrozu veya apoptozuna neden olur (Perše ve Cerar, 2012). Diğer bir mekanizma ise, farklılaşmanın baskılanmasıdır. İnflamatuvar mikroçevre,

intestinal kök hücrelerin goblet hücrelerine yönelmesini engeller (Van Es ve diğerleri., 2005). İnflamasyonun ilk evrelerinde, mevcut goblet hücreleri aşırı mukus salgılaması nedeniyle boşalması sonucunda goblet hücreleri sönükleşir veya tamamen dejenere olur (Specian ve Oliver, 1991). Bu nedenle goblet hücre kaybı, kolit patogenezinde hem bir sonuç hem de ilerleyici hasarın önemli bir göstergesidir.

TNBS ile indüklenen kolitte, apoptoz başlıca intestinal epitel hücrelerinde gözlenir (Zhu ve diğerleri, 2020; Huang ve diğerleri, 2023). Nekroz, epitel hücrelerinde ATP eksikliği, kalsiyum yüklenmesi ve lizozomal enzimlerin aktivasyonu sonucu gelişen yapısal bozulmadır. Bu süreçte hücre membranı bütünlüğü kaybolur, hücre şişer ve içeriğini çevre dokuya salar (Huang ve diğerleri, 2023). Nekrotik bölgeler, mikroskobik olarak hücre çekirdeğinin kaybolduğu, hücre sınırlarının silindiği yapılar şeklinde izlenir TNBS uygulaması sonrası gelişen şiddetli inflamasyon, oksidatif stres ve ATP düşüşü ile birlikte epitel hücrelerinde kontrolsüz hücre ölümü (nekroz) görülür. Hücre içi kalsiyum artışı lizozomal membran yıkımına, proteaz (kalpain) ve hidrolaz aktivasyonuna yol açar. Bu süreç, hücre şişmesi, membran rüptürü ve içerik salınımıyla sonuçlanır (Huang ve diğerleri, 2023). TNBS'nin etanol ile birlikte uygulanması, epitel bariyeri doğrudan bozar. Bununla birlikte inflamatuvar mediatörler (özellikle NO, PGE₂ ve TNF- α) hücre ölümünü artırır. Epitel hücreleri apoptoz/nekroz ile dökülür, ülserasyonlar gelişir. Submukozada ödem ve fibrin birikimi eşlik eder (Perše ve Cerar, 2012).

TNBS'nin doğrudan kimyasal etkisi ve inflamatuvar süreçlerle birlikte gelişen apoptoz ve nekroz, epitel hücrelerinin ölmesine ve mukozal bariyerin kaybına neden olur (Huang ve diğerleri, 2023). Bu süreç sonucunda gelişen ülserasyon, TNBS ile indüklenen kolit modelinde epitel bütünlüğünün tamamen bozulduğu, yalnızca epitelin değil, aynı zamanda epitel altı yapıların da hasar gördüğü, bazal membranın yıkıldığı ve altındaki lamina propria veya submukozanın açığa çıktığı derin dokusal yıkım alanları olarak tanımlanır ve ciddi bir mukozal yıkım tablosunu yansıtır. Bu bölgelerde fibrin birikimi, fibrinöz eksüda, hücre sel döküntü, granülasyon dokusu ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenir. Ülserler genellikle apoptoz ve nekroza uğrayan epitel hücrelerinin kaybı sonucu gelişir. Ülser kenarlarında re-epitelizasyon gecikmiştir veya minimaldir. Bu durum, ülserlerin kronikleşmesine ve iyileşmenin sınırlı kalmasına neden olur (Perše ve Cerar, 2012; Huang ve diğerleri, 2023). Kolonik mukozada fokal veya diffüz ülserasyonlar ile epitelde yüzeyel veya tam kat nekroz gözlenebilir. Mukozal ülserler inflamasyonun şiddetine bağlı olarak

submukozaya kadar ilerleyebilir. Bu bölgelerde fibrin birikimi, kanama odakları ve nekrotik epitel hücreleri dikkati çeker (Perše ve Cerar, 2012). Ülserasyonlar, kolon mukozasında inflamasyona bağlı olarak gelişen en belirgin bulgulardan biridir. Bu durum, epitel tabakasının kaybıyla karakterize edilir ve yüzeyde erozyon, granülasyon dokusu birikimi ve kanama odaklarıyla kendini gösterir (Villanacci ve diğerleri, 2021; Antoniou ve diğerleri, 2016). Ülserler genellikle fibrinöz eksüda ile kaplıdır ve ciddi mukozal hasarın göstergesi olarak değerlendirilir

Kolit modellerinde sık karşılaşılan bir bulgu da kolon duvarı kalınlaşmasıdır. Bu kalınlaşma; mukoza, submukoza ve kas tabakasındaki ödem, hücrel infiltrasyon ve fibrozis nedeniyle meydana gelir (Perše ve Cerar, 2012; Kellermann ve Riis, 2021). Makroskobik olarak da gözlenebilen bu bulgu, inflamasyonun şiddetini yansıtır. Kronik inflamasyon derin dokulara ilerlediğinde muskularis propria tabakasında da tutulum meydana gelebilir. Bu, kas liflerinde hipertrofi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrotik değişikliklerle karakterizedir (Villanacci ve diğerleri, 2021). Kas tabakası kalınlaşması, bağırsak motilitesini de etkileyebilir.

TNBS ile oluşturulan kolit modelinde İlk günlerde kolon duvarında yoğun nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu, ilerleyen günlerde ise lenfosit ağırlıklı infiltrasyon geliştiği bildirilmiştir. Bu da modelin inflamasyonun akut ve kronik fazlarını ayırt etmede başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca fibrozis, submukozal ödem ve epitel bütünlüğünün bozulması gibi kronik faz bulgularına da sıkça rastlandığı ifade edilmiştir (Antoniou ve diğerleri, 2016).

TNBS uygulamasında 24 saat sonra mukozal ödem, hemorajik ülserasyonlar daha sonra yapışıklıklar ortaya çıkar. İlk haftada mukoza ve submukozada lökosit infiltrasyonu görülür ve nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler 14 gün sonra mukoza, submukoza ve muskularis propriaya sızar. 3. günde makroskobik ve mikroskobik bulgular zirve yapar. 3. günde transmural inflamasyon, kolon duvar kalınlaşması, ülserasyonlar, goblet hücre kaybı ve fibrozis ortaya çıkar. 7. günde lenfosit infiltrasyonunun büyük miktarda oluşu kronik inflamasyonun önemli bir işaretidir (Antoniou ve diğerleri. 2016). Ülseratif kolit modelinde hayvanlarda belirgin hiperemi, kanama, iltihaplanma, nekroz, ülser ve bağırsak duvarı kalınlaşmasıyla diğer doku ve organlara yapışıklık gözlenmiştir (Antoniou ve diğerleri. 2016). %30' luk etanol çözeltisi ile yapılan TNBS kolit modelinde, 7-8 günlük

protokolden sonra İnflamatuvar infiltrasyon için mononükleer hücreler, nötrofiller, eozinofillerin varlığı, grandüler birimlerin proliferasyonu, goblet hücrelerin hiperplazisi ile birlikte mukozal kalınlaşma ile karakterize bulgular izlenmiştir. Bu bulgular hafif kolit için mukoza ile sınırlı gözlenmiş ve Lamina propriada zaman zaman lenfoid agregatlar gözlenmiştir (Ferreira-Duarte ve diğerleri, 2021). TNBS'nin %30 etanol içinde 60 mg/ml dozunda uygulanması ile oluşturulan kolit modelinde 8 gün sonra kolon ağırlığında önemli bir miktar azalma ile birlikte kolon dokusunda ödem, fibriform proliferasyon nedeniyle kalınlaşan kolon duvarı, ülserasyonlar, yer yer kanama ve kızarıklıklar ve epitel nekrozu gözlenmiştir. Bu çalışmada artan MPO aktivitesi aynı zamanda histolojik olarak gösterilen polimorfnükleer hücrelerin infiltrasyonu ve lipid peroksidasyonu ile inflamasyon ve doku hasarına neden olmuştur (Kazi ve Qian, 2009).

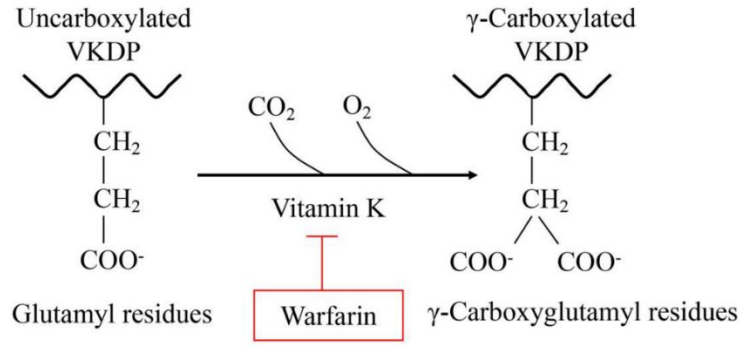
Bu histopatolojik parametreler, deneysel kolit modellerinde tedavi etkinliğini değerlendirmek ve inflamasyonun boyutunu anlamak için kritik öneme sahiptir.

2.3. K Vitaminleri

K vitaminleri 2- metil-1,4 naftokinon halkası ve değişken alifatik zincir ile benzer bir yapıda olan bir dizi vitamin grubudur (Zheng ve diğerleri, 2021). K Vitamini, 1929 yılında kanın pıhtılaşması için gerekli bir madde olarak Nobel Ödülü sahibi Danimarkalı bilim adamı Henrick Dam tarafından keşfedilmiş ve “Koagülasyon (pıhtılaşma)” kelimesinin baş harfi ile isimlendirilmiştir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). Bu vitaminler, kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesinde ve kan pıhtılaşması homeostazında görevli proteinlerin üretimi için gereklidir (Ejder ve Ekici, 2024). Tüm K vitaminleri ortak bir 2-metil-1,4 naftakinon halka yapısındadır. Sadece yan zincirlerin uzunluğu ve doygunluk derecesi bakımından farklıdırlar (EFSA, 2014).

Bugün, “K vitaminlerinin” filokinon (K1 vitamini), menakinon (K2 vitamini) ve menadion (K3 vitamini) dahil olmak üzere izopropil yan zincirlere sahip, yağda çözünen bir grup 2-metil-1,4 naftokinon türevini kapsadığı iyi bilinmektedir. K vitaminlerinin aktivite mekanizması, K vitaminlerine bağımlı proteinler tarafından translasyon sonrası modifikasyonu yoluyla kan pıhtılaşma faktörleri olan plazma proteinlerini (protrombin, faktör VII, IX, X) aktive eden indirgenmiş K vitaminleri (KH₂) formuna atfedilir

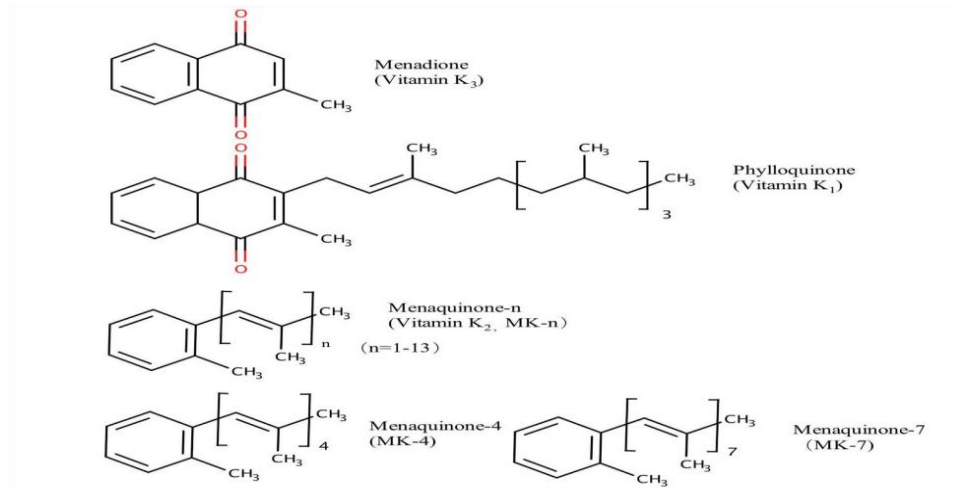
(Kieronska-Rudek ve diğ erleri, 2021). Genel olarak K vitaminleri memelilerde kanın pıhtılaşmasında ve kemik metabolizmasında görev alır (Tanaka ve diğ erleri, 2010). K vitaminleri protrombin, faktör VII ve protein C gibi K vitaminine bağılı proteinler ve prokoagülan veya antikoagülan mekanizmalarla kan pıhtılaşmasında rol oynar (Zheng ve diğ erleri, 2021). K vitaminleri karaciğ erde metabolik olarak aktifleşerek K vitamini bağımlı proteinlerin (VKDP) aktivasyonuna yardımcı bir kofaktör haline gelirler. İlk olarak NADH dehidrogenaz tarafından yarı kinon formlarına indirgenirler ve belirli proteinlerdeki (Gla proteinleri) glutamil kalıntılarını gama -karboksi-glutamik asit kalıntılarına karboksilatlayan gama- karboksilaz için bir kofaktör olarak görev yapar (şekil 1). Bu Gla proteinleri 60 yıldan uzun süredir bilinen normal kan pıhtılaşması, kemiklerin ve atardamarların normalliğı için önemlidir (Kieronska-Rudek ve diğ erleri, 2021; Lai ve diğ erleri, 2022; EFSA, 2014). Bu nedenle, K vitamini antagonistleri, “K vitamini döngüsü” sırasında K vitamini redüksiyonunu ve hedef alarak pıhtılaşmayı engeller (Kieronska-Rudek ve diğ erleri, 2021). Vitamin K' ya bağımlı  -karboksilasyon ayrıca antikoagülan proteinler (protein C, S, Z ve ekstrahepatik dokularda tanımlanan) için de tarif edilmiştir. Birçok K vitamini bağımlı protein vardır.  rneğ n; osteokalsin kemik metabolizmasını ve insülin duyarlılığını düzenler, matriks Gla proteini vasküler kalsifikasyonda rol oynar, apoptotik, mitojenik ve miyelinizasyon gibi işlemlerin yanında inflamasyon ve trombosit agregasyonu ile bağılantılıdır ve periostin ise kalbin yeniden şekillenmesinde kritik öneme sahiptir (Ejder ve Ekici, 2024; Kieronska-Rudek ve diğ erleri, 2021; Zheng ve diğ erleri, 2021). Gama-karboksilasyonlu glutamat kalıntıları, pıhtılaşma faktörlerinin oluşumuna ve protrombin, faktör VII, IX ve X, protein C ve S gibi gama-karboksilasyonlu proteinlere, kemik ve damar düz kasında bulunan proteinlere posttranslasyonel kalsiyum bağılanması izin verir (Aldrich ve Regal, 2019). K vitamini kan pıhtılaşmasında rol alan protrombin sentezinde görev almanın yanı sıra plazma, böbrek ve diğ er dokulardaki proteinlerin sentezinde görev alır (Andrade ve diğ erleri, 2017).



Şekil 1. K vitamini bağımlı proteinlerin Gama-Karboksilasyonu (Lai ve diğerleri, 2022).

K vitaminlerinin, K1, K2, K3, K4 gibi formları bulunmaktadır (Şekil 2). K vitaminleri doğal ve kimyasal sentez yoluyla meydana gelir (Lai ve diğerleri, 2022). K vitamininin bilinen 3 anaformu olan K1 vitamini (filokinon), K2 vitamini (menakinon), K3 vitamini (menadion) yağda çözünen (lipofilik) vitaminlerdir (Tanaka ve diğerleri, 2010). Fitomenadion veya filokinon (K1 vitamini) ve menakinon (K2 vitamini) K vitaminlerinin doğal olan iki ana formudur (Aldrich ve Regal, 2019; Zheng ve diğerleri, 2021; EFSA, 2014). K1 vitaminleri, yeşil yapraklı veya çiçekli sebzeler, meyveler, bitkisel yağlar ve kuruyemişler dahil olmak üzere hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklardan gelen diyetimizde bulunur (Aldrich ve Regal, 2019; Tanaka ve diğerleri 2010; Xie ve diğerleri, 2024; Zheng ve diğerleri, 2021). K1 ayrıca alglerde de bol miktarda bulunur (Tanaka ve diğerleri, 2010). K2 vitaminleri (menakinonlar) yumurta sarısı, et, karaciğer, peynir, lor peyniri ve tereyağı gibi besinlerde, aynı zamanda fermante edilmiş gıdalarda da bulunabilir (Lai ve diğerleri, 2022; Xie ve diğerleri, 2024). Vitamin K2 aynı zamanda esas olarak bağırsak florasındaki bakteriler tarafından sentezlenir (Lai ve diğerleri, 2022; Tanaka ve diğerleri, 2010; Xie ve diğerleri, 2024; Zheng ve diğerleri, 2021). Ancak bu miktarlar fizyolojik gereksinimleri karşılamak için yetersizdir (Xie ve diğerleri, 2024). K2 vitamini farklı yan zincir uzunluklarıyla karakterize edilen bir MK grubunu ifade eder. MK'nin 8 formu MK-n olarak temsil edilir; burada "n" izoprenoid sayısını belirtir (Bai ve diğerleri, 2022; Xie ve diğerleri, 2024). Kısa zincirin en yaygın biçimi olan MK-4 zincirli MK, hayvansal dokularda bulunurken, uzun zincirli MK'ler (MK-5 ila MK-13) bakteriler tarafından sentezlenir. Diyetle alınan vitamin K1'in, endojen olarak dönüştürüldüğü MK-4, dokularda birikerek vücutta belirli fizyolojik roller üstlenir (Bai ve diğerleri, 2022). Normal diyetle daha çok K1, MK-4 ve MK-7 bulunur. MK-4, K3 ve K1 den kısmen tükürük bezi, beyin, pankreas, üreme organları ve böbrek gibi ekstrahepatik dokularda enzimatik olarak

sentezlenir. K1 alımının %5-25'i MK-4'e dönüşür. MK'lar ileum mikrobiyotası tarafından sentezlenir. Dışkı içeriğindeki vitamin K bileşimi farklılıkları, MK'ların üretiminden kaynaklanır. Bağırsak bakterileri tarafından sentezlenen MK'lar oldukça fazla olsa da biyoyararlanımı kötü olduğundan fonksiyonel olarak ana kaynak yine diyetdir. İBH, karaciğer ve böbrek hastalıkları, antibiyotik kullanımı gibi faktörler VK eksikliğine yol açabilir. Deneysel çalışmalarda en çok MK-4 ile MK-7 çalışılır (Lai ve diğerleri, 2022). Özellikle Menakinon-4 (MK-4) miyelinizasyonun yoğun olduğu bölgelerde bulunduğundan bilişsel performans bozulmasının patogeneğinde rol alabileceği düşünülmektedir (Ejder ve Ekici, 2024). Tüm menakinonlar arasında MK4 ve MK7 insan diyetinde en iyi çalışılmış olanlardır (Xie ve diğerleri, 2024). K vitamininin sentetik formları ise K3 ve K4 vitaminleridir (Zheng ve diğerleri, 2021). K3 vitamini ise K vitamininin sentetik bir analogudur ve bir provitamin olarak görev yapar (Tanaka ve diğerleri, 2010). K3 menadion olarak bilinir ve sentetik olarak üretilir ayrıca doğal olanlardan 2 kat daha etkilidir (Uruş ve Serindağ, 2008). K3 vitamini (menadion) suda çözünür formu da olmakla birlikte oral olarak alınan K1 vitamininin bağırsaktaki katabolik bir ürünüdür, daha sonra dokulara iletilerek K2 vitaminine dönüştürülür. K1 vitamini ağızdan alındıktan sonra serumda düşük konsantrasyonlarda K3 vitamini tespit edilebilir (Zheng ve diğerleri, 2021). K4 vitamini (menadiol) suda çözünebilir K vitamininin diğer sentetik formudur (Zheng ve diğerleri, 2021).



Şekil 2. K vitamini türevleri (Lai ve diğerleri 2022).

Aslında, K vitaminlerinin pıhtılaşmanın çok ötesine uzanan bir dizi aktivite uyguladığına dair kanıtlar birikmiştir. Vitamin K'ya bağlı mekanizmalar, yalnızca karaciğerde pıhtılaşma faktörü sentezinin düzenlenmesinde değil aynı zamanda osteoporoz, osteoartrit, kanser, diyabet, biliş, vasküler kalsifikasyon gibi bir dizi başka süreç ve hastalıkta da rol oynayabilir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). K vitamini eksikliği koagülopati, osteoporoz, tip-2 diyabet, inflamatuvar bağırsak hastalığı, osteoartrit, kronik böbrek hastalığı gibi kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Fakat bu antienflamatuvar mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır (Zheng ve diğerleri, 2021). Sağlıklı yetişkin bireylerde K vitamini eksikliği nadir görülse de bebeklerde ve yaşlı bireylerde görülür. Geniş spektrumlu antibiyotik kullananlarda bağırsakta mikrobiyotanın öldürülmesine bağlı olarak K vitamini üretimi yaklaşık %74 azalmaktadır. İnflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda, bağırsak hasarında, K vitamininin malorbsiyonuna bağlı olarak K vitamini eksikliği yaşanır (Zheng ve diğerleri, 2021).

Son yıllarda K vitaminlerinin; bağışıklık, antioksidan kapasite, bağırsak mikrobiyotası düzenlemesi, epitel gelişimi ve kemik koruması üzerindeki yararlı etkileri çalışmalarla ön plana çıkmaktadır. Tip 2 diyabet, Alzheimer, Parkinson gibi hastalıkların yanı sıra kanser, yaşlanma ve ateroskleroz gibi inflamatuvar durumlarda ve İBH, tip 1 diyabet, multiple skleroz, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarda da önleyici ve teröpatik etkiler göstermektedir (Xie ve diğerleri, 2024). K2 vitamini, bakteri florası tarafından sentezlenir ve hepatik dokumuzda bulunur (Aldrich ve Regal, 2019). Diyetle alınan K1 vitamini, daha sonra ekstrahepatik dokularda biriken K2 vitaminine dönüştürülebilir (Aldrich ve Regal, 2019). K vitamini depoları hem günlük diyetle hem de endojen bakteriler tarafından üretilen menakinonların enterohepatik dolaşımı yoluyla korunur. K vitamini eksikliği çoğunlukla ince bağırsak hastalığı, cerrahi rezeksiyon veya safra tıkanıklığı yoluyla emilimin azalmasının sonucudur. Antibiyotikler ve ishalleri hastalıklar, endojen menakinon üreten gastrointestinal bakteri florasının sayısını azaltabilir. Ayrıca, varfarin gibi K vitamini aktivasyonunu engelleyen ilaçlar da K vitamini depolarını azaltabilir. K vitamini eksikliği olan veya aktif olarak kanaması olan hastalara oral, intravenöz, subkutan veya intramüsküler olarak uygulanabilir (Aldrich ve Regal, 2019). K vitamini eksikliği bazı karaciğer hastalığı tiplerinde yaygındır ancak K vitamininin sirotik koagülopatide kullanımı hakkında yapılan çalışmalarda klinik fayda sağlamadığı gösterilmiştir Eksiklik, safra akışının azalması veya ince bağırsak hastalığı nedeniyle ince bağırsakta emilimin azalması, zayıf beslenme durumu

veya kronik hastalık nedeniyle oral alımın azalması, azalmış fonksiyon sonucu karaciğerin K vitamini döngüsünü tamamlama yeteneğinin azalması veya gastrointestinal flora tarafından menakinon üretiminin azalmasıyla sonuçlanan antibiyotik kullanımının artması nedeniyle oluşabilir (Aldrich ve Regal, 2019).

Yüksek doz K vitamini karaciğer hasarı ve hemolitik anemi gibi potansiyel toksisitelere neden olduğundan bazı ülkelerde yalnızca hayvan yemlerinde sınırlı kullanımına izin verilmektedir. Doğal K vitaminleri ışıkla hızla parçalanırken K3 vitamini ise son derece stabildir (Zheng ve diğerleri, 2021).

2.3.1. K Vitaminleri Metabolizması

Diyetle alınan VK bağırsak lümenine ulaştığı zaman safra tuzları ve pankreatik lipoliz ürünleri ve diğer diyet lipidlerinin karışımı tarafından emilir. Karışık miseller ince bağırsak enterositleri tarafından emilerek şilomikronlar halinde paketlenir ve villuslardan ekzositoz ile geçerek lenfatik kılcal damarlara geçerler ve buradan büyük lenfatikler aracılığıyla torasic kanala ve kana karışırlar. Dolaşımda periferik dokuların kılcal tabakasına girer ve lipoprotein lipazın etkisiyle trigliserit üreten şilomikron kalıntılarının çoğunu kaybeder. Diyetle alınan K vitamini saf K1 formundan daha yavaştır ve serum tepe değerine 4-6 saat sonra ulaşır. Farklı vitamin K formları farklı taşıyıcılar tarafından taşınır. K1 daha çok trigliserit açısından zengin lipoproteinler ile taşınırken, MK'lar düşük yoğunluklu lipoproteinler tarafından taşınırlar. K1 daha çok karaciğerde dağılırken K2 konsantrasyonu ekstrahepatik dokularda daha yüksek bulunur. Diyet K1'i bağırsakta K3'e dönüştürülür ve dokulara verilir burada MK-4'e dönüşür. K1 ve MK'ler karaciğerde metabolize edildikten sonra ortak parçalayıcı bir yolla atılırlar. Sonuçta glukuronid asit konjugasyonundan sonra öncelikle safra ve idrarla glukuronidler halinde atılırlar. MK-7'nin yarı ömrü uzun olduğundan serum konsantrasyonu daha uzun süre yüksek ve sabit bir konsantrasyonda tutulur (Lai ve diğerleri, 2022). K vitamini safra varlığında ince bağırsakta emilir ve idrar veya dışkıyla atılmadan önce karaciğer tarafından metabolize edilir. Oral K vitamininin etki başlangıcı altı ila 10 saattir ve tepe etkisi yaklaşık 24 ila 48 saattir. İntravenöz K vitamininin etki başlangıcı bir ila iki saattir ve tepe etkisi 12 ila 24 saat arasında gerçekleşir. K vitamininin eliminasyon yarı ömrü 26 ila 190 saat arasında değişir (Aldrich ve Regal, 2019).

Yağda çözünen K vitaminleri bağırsaklardan yağlarla emilerek karaciğere gelir., yoğurt, kefir, asitlenmiş süt gibi maddeler K Vitamininin bağırsaklardaki bakteriler tarafından üretilmesini arttırır. Fazla E Vitamini alınması, asitler, radyasyon ve okside edici ajanlar K vitaminini etkisizleştirirken, antibiyotikler bağırsak bakterilerine zarar vererek K Vitamini üretimini baskılar. K vitamini, incebağırsakta safra ve pankreas sıvılarının yardımıyla lenf sistemine ve oradan dolaşıma geçerek karaciğere taşınır. K vitaminin emilim oranı %10-70 arasında değişir. Fakat K vitamininin suda çözünebilen (sülfitlenmış) türleri daha kolay emilir ve yağ sindirimi için gerekli yardımcıları ihtiyaç duymaz (Uruş ve Serindağ, 2008).

Menadionun metabolizması, izole edilmiş sıçan karaciğerinin radyoaktif K3 vitamini ile perfüzyonu ile incelendiğinde, K3 vitaminin metabolizmasının hızlı olduğu ve yaklaşık %93' ünün 5 saat içinde metabolize edildiğini doğrulanmaktadır. Karaciğer tarafından üretilen başlıca konjuge ürün, menadiol glukuronid olmaktadır ve üretilen konjuge türlerin %70'i tanımlanamasa da ağırlıklı olarak vücuttan atılır. Ana konjuge metabolit safrada bulunmayan bir tür olan menadiol sülfattır. K3 vitamini normal sıçanlara ve safra fistülü olan sıçanlara hem intravenöz hem de oral olarak uygulandığında idrarda menadiol glukuronid ve sülfat konjugatları idrarla atılırken oral uygulamada glukuronid konjugatı en yaygın görülmüştür. Bu da menadiolün hem hepatik hem de ekstrahepatik konjugasyonunu düşündürmektedir. Fakat K3 vitaminin menakinonlara nasıl (K2 vitamini) nasıl dönüştüğü bilinmemektedir. Hepatektomi uygulanmış sıçanlarda K3'ün hızlı bir şekilde yok olduğu tespit edilmiştir. K3 'ün %70'i metabolize edilir ve 24 saat içinde idrarla atılır. K vitamini atılımının ana yolu safra yoludur (Card ve diğerleri, 2014). Menadion oral filokinonun katabolik bir ürünü olarak dokularda MK-4' ün önemli bir kaynağını oluşturur. Oral olarak alınan filokinonlar, bağırsakta menadion salınımına neden olur ve mezenterik lenf sistemi ve kan dolaşımı yoluyla dokulara taşınarak bilinmeyen bir redoks enzimi tarafından indirgenerek MK-4'e dönüşür (Hirota ve diğerleri, 2013). Menadion bir elektron veya iki elektronla yarı kinon ve menadiol' e dönüştürülebilir. Sonrasında semikinon süperoksit üretimi ile enzimatik olmayan bir şekilde oksitlenir. Menadion hücrelerde menadiol halinde bulunur (Bakalova ve diğerleri, 2020).

2.3.2. K Vitaminleri ve Bağırsak Sağlığı

Çalışmalar, İBH hastalarının yaklaşık yarısının vitamin K ve vitamin D dahil olmak üzere mikronutrient eksiklikleri gösterdiğini belirtmiştir. VK, bağırsak mikrobiyotasını, antioksidan fonksiyonunu düzenlemede ve bağırsak mikrobiyotası ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimi düzenleyerek iltihabı azaltmada rol oynar. VK bağırsak bakterileri tarafından sentezlenmesine rağmen, düşük biyoyararlanımı nedeniyle VK2'nin ana kaynağı diyetir. İBH olanlarda genellikle bağırsak hasarı nedeniyle malabsorpsiyonla karşı karşıya kalır ve bu da VK2 eksikliğine yol açar ve durumu kötüleştirir. VK'nin bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği üzerindeki etkisi önemlidir. VK eksikliği olan hastaların azalan çeşitliliği, vitaminlerin bağırsak sağlığındaki rolünü ve etkili İBH tedavileri olarak potansiyellerini vurgular. Mikronutrient takviyesi, İBH risklerini azaltmak için umut verici bir strateji olarak ortaya çıkmaktadır (Xie ve diğerleri, 2024). İBH' de VK, mikrobiyota ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimi düzenleyerek, bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek, antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite göstererek İBH'yi hafifletir (Xie ve diğerleri, 2024). Peptik ülser, kolit, hemoroid, kanser, malignite, özofagus varisleri gibi gastrointestinal hastalıklarda antikoagülasyon sık görülen bir komplikasyondur. Vitamin K bu hastalıklarda pıhtılaşmaya katkıda bulunur (Lai ve diğerleri, 2022). Tromboembolizm prokoaglukan, antikoaglukan ve fibrinolitik aktörlerin dengesizliğinden kaynaklanır. İBH'de bağırsak dışı önemli bir mortalite nedenidir, mikrotrombüs oluşumu ve dolaşım bozukluğu ile kendini gösterir. Protein C karaciğer tarafından sentezlenen bir antikoagülan proteindir ve endotelial yapışmayı önleyerek lökosit toplanmasını ve sitokin üretimini engeller. Bu sistem makrofajlardan salınan sitokinler tarafından inhibe edilir ve bu sistemdeki bozukluk İBH patogenezinin hiper pıhtılaşma ile katılır. K vitamini Protein C yollarını aktifleştirerek hastalık skorlarını azaltır yeni bir tedavi seçeneği sunar. Diğer bir K vitamini bağımlı serbest antikoagülan Protein S dir ve yetişkin plazmasında inaktif halde bulunur. Protein S de inflamasyon üzerinde etkili olur. İBH' de protein S ve Protein C trombomodulin sistemi bozulur ve pıhtılaşmaya katkı sağlar. Matriks Gla proteini yine K vitamini bağımlı bir proteindir ve kalsiyuma olan affinitesi ile güçlü bir kalsifikasyon inhibitörüdür. İBH patogenezinde immünomodülatör rol oynar (Lai ve diğerleri, 2022). VK' lerin prooksidan ve antioksidan enzimlerin ekspresyonunu düzenleyerek bağırsakta oksidatif hasarı azaltma yeteneği gösterilmiştir. VK'nın in vivo sindirim sistemini iyileştirdiği ve antioksidan

kapasitesini arttırdığı gösterilmiştir (MDA ve karbonil protein miktarını azaltarak ve SOD, GSH, GSH-Px, GST, CAT, GR aktivitelerini arttırarak). İn vitro olarak MK-4; İNOS, COX-2, NF-kB, ROS ve kaspaz-1 aktivasyonunun yukarı regülasyonunu doza bağlı olarak baskılayarak oksidatif hasarı azaltmıştır (Lai ve diğerleri, 2022). İBH hastalarında yetersiz malabsorbsiyon nedeniyle VK eksikliği görülür. Fare kolit modellerinde K vitamini eksikliği olan fareler yalnızca İBH olan farelere göre daha ciddi vücut ağırlık kaybı, daha kısa kolon uzunluğu ve daha yüksek histolojik puanlar göstermişlerdir (Lai ve diğerleri, 2022). VK eksikliği olan fareler B hücrelerinden IL-6 üretimini yoluyla DSS kaynaklı koliti alevlendirmiştir. Ayrıca, Ülseratif kolit hastalarında kemik mineral yoğunluğunun az olduğu gösterilmiştir. MK-4'ün antiinflamatuvar etkisi IKK fosforilasyonunu baskılayarak NF-kB'nin inaktivasyonu şeklinde ortaya çıkmıştır. MK-4 takviyesinin IL-6 ve IL-10 inhibisyonu ile DSS kaynaklı koliti iyileştirdiği gösterilmiştir (Lai ve diğerleri, 2022). Menadionun doğal K1/K2 vitaminlerinden farklı olarak bağırsakta doğrudan antiinflamatuvar mekanizmaları uyarabileceği, epitel bariyer bütünlüğünü destekleyebileceği ve bağırsak mikrobiyotasını etkileyebileceği bildirilmiştir (Pannia ve Dowling, 2024). Bu yönüyle menadion, bağırsak sağlığı ve inflamatuvar hastalıklar bağlamında terapötik potansiyel taşımaktadır.

2.3.3. Menadion (Vitamin K3)

Menadion (K3 vitamini), 2-metil-1,4-naftokinon yapısında, yan zincirleri olmayan sentetik bir K vitamini formu olan bir bileşiktir. Vitamin K ailesinin bir üyesi olup hem endojen redoks süreçlere katılması hem de bağırsakta menakinon-4 (MK-4) gibi aktif formlara dönüşebilmesi ile dikkat çeker. Menadion, K1 ve K2 vitaminlerinin katabolizması sonucu oluşan bir metabolit olarak, bağırsakta hızla emilip çeşitli dokularda MK-4 sentezine kaynaklık edebilir. Bu yönüyle menadion, K vitamini eksikliklerinin giderilmesinde potansiyel bir öncü molekül olarak değerlendirilmektedir (Thijssen ve diğerleri, 2006; EFSA, 2014). Menadion olarak da bilinen VK3, VK'nin sentetik bir versiyonudur. Ayrıca bağırsaktan, oral VK1'in VK2'ye dönüştürülmesinde ara ürün olarak kaynaklanır (Xie ve diğerleri, 2024). Menadion oldukça kararsız bir bileşiktir. Diğer bir formu olan Menadion sodyum bisülfid ise menadion'un suda çözünen bir türevidir (He ve diğerleri, 2001).

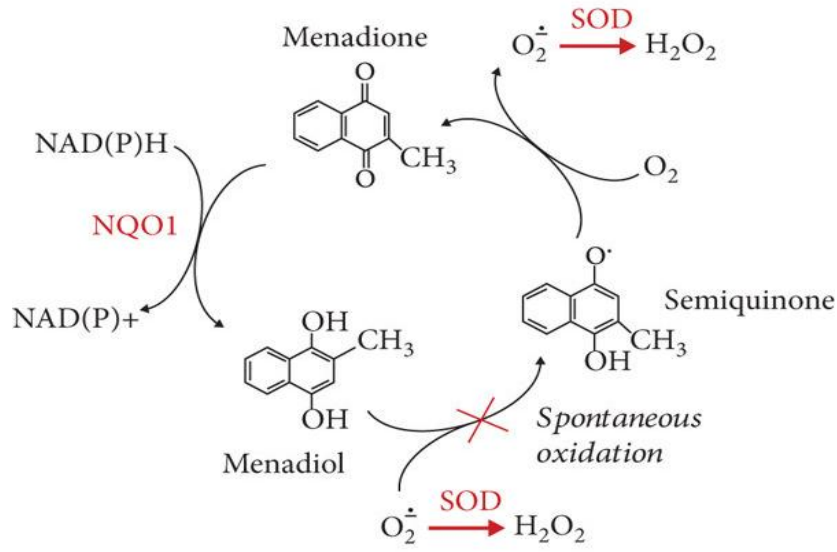
Menadion memelilerde K2 vitaminine dönüştüğünden bir provitamin olarak bilinir (Bakalova ve diğerleri, 2020). K3 (menadion) da diğer K vitaminleri gibi K vitaminine bağımlı proteinlerin translasyon sonrası γ -glutamil karboksilasyonunu destekleyen γ -glutamat karboksilaz (GGCX) için koenzim görevi görür (Zheng ve diğerleri, 2021). K3 vitaminin daha önceleri sentetik suda çözünen bir formu olduğu düşünülse de 1990'larda başlayan çalışmalar bu vitaminin K1 vitamininin oral olarak alınmasıyla bağırsakta üretilen bir katabolik ürünü olduğu anlaşıldı (Zheng ve diğerleri, 2021). K3 vitamini bağırsakta K2 vitaminine dönüştürülen, lipitte çözünen lipofilik bir bileşik olarak bakteriyel membranlarda akışkanlıkta bozulmaya yol açarak geçirgenliğin artması yoluyla bakteriyel hasara yol açan antibakteriyel etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Andrade ve diğerleri, 2017).

Naftokinonlar, kinonların kimyasal ailesine aittir ve sentetik ve doğal ürünlerde yaygın olarak bulunur. Menadion doğada bulunmayan 2-metil-1,4-naftokinon yapısındadır. Doğada, kinonlar, basit tek hücreli mikroorganizmalardan, bitkiler ve hayvanlara kadar çeşitli organizmalar tarafından ikincil metabolitler olarak biyosentezlenir ve organizmalarda fotosentez ve oksidatif fosforilasyon gibi çeşitli fizyolojik ve metabolik süreçlerde önemli roller oynar. Mikrobiyal sistemlerdeki önemleri nedeniyle oldukça ilginç kimyasal özelliklere ve biyoaktivitelere sahip olan naftokinonlar son yıllarda çok ilgi görmeye başlamıştır ve özellikle yeni ve daha etkili ilaçların geliştirilmesinde büyük ilgi uyandırmıştır. K1 ve K2 vitaminlerini sentezlemek için önemli bir öncü olarak kullanıldığından ve bir provitamin olarak sınıflandırılır (De Souza ve diğerleri 2022).

Menadion sodyum bisülfid (MSB), vitamin K3'ün suda çözünebilen tuz formudur ve anti-inflamatuvar etkileri araştırılmıştır. Doğal olarak bulunan vitamin K1 (filokinon) ve vitamin K2 (menakinon) yağda çözünebilen formlardır. Buna karşın, vitamin K3 (menadion) ve vitamin K4 (menadiol), sentetik ve suda çözünebilen vitamin K analoglarıdır (Zheng ve diğerleri, 2021). Menadione sodyum bisülfid kompleksi (MSB) ve menadiol (K4), vücutta menadiona dönüştürülen iki suda çözünür türevidir (De Souza ve diğerleri 2022). MSB, sulu ve hafif alkali ortamda hızlıca menadiona dönüşür (EFSA, 2014). Menadionun redoks döngüsü, ardından reaktif oksijen türleri (ROS) jenerasyonu menadion ve türevlerinin nükleofilik biyomolekülleri ile 1,4-naftokinik çekirdeği arasındaki etkileşimler sonucu ortaya çıkan bir reaksiyondur. Kinon yapılarında α,β -doymamış bir diketonun varlığı, bunların indirgeme süreçleri ve ardından oksidasyon yoluyla elektron kabul etmelerini ve böylece bir redoks döngüsü oluşturmalarını sağlar. Kinon redoks döngüsünün

temel özellikleri, bir yarı kinon ara ürünü semikinon üretmek için tek elektronlu indirgemeyi ve NAD(P)H oksidaz bağımlı süreçlerde hidrokinona yol açan iki elektronlu indirgemeyi içerir. Oksijen varlığında, indirgenmiş türler kinon'a geri oksitlenir ve böylece döngü tamamlanır. Menadion gibi naftokinonlar durumunda, kinon-yarı kinon veya kinonhidrokinon dönüşümü, süperoksit anyonu ve hidroperoksil radikali gibi reaktif oksijen türleri (ROS) üretirler (Şekil 3). Ayrıca, menadionun yarı kinon radikali, fenton reaksiyonu gibi başka bir redoks döngüsüne katılabilir ve bu da hidroksil ve hidroperoksil radikallerinin üretimiyle sonuçlanır. Kinon-hidrokinon ve kinon-semikinon dönüşümleri, ROS oluşumuyla birlikte, menadion ve türevlerinin geniş yelpazedeki biyolojik aktivitelerinden sorumludur. Menadion çekirdeğinin 1,4-naftokinon yapısı, çeşitli canlı organizmalar tarafından kolayca tanınır ve redoks döngülerine dahil edilir, biyomoleküllerle etkileşime girerek biyokimyasal süreçlere katılır. Bu yönüyle menadion yeni biyoaktif bileşiklerin geliştirilmesi için çok ilginç bir yapısal model haline gelmektedir (De Souza ve diğerleri 2022).

Menadion sodyum bisülfid (MSB), vitamin K3'ün suda çözünebilen bir türevidir ve Çin'de klinik olarak, vitamin K eksikliğine bağlı kanamalı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca hayvanlar için global ölçekte vitamin K takviyesi olarak da uygulanmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2018). ABD'de uzun süredir besin takviyelerinde kullanılan menadion, başka ülkelerde hayvan (laboratuvar hayvanları da dahil) yemi olarak kullanılmaktadır. Menadionun yüksek konsantrasyonlarda kullanımı hepatoksiktir (Bakalova ve diğerleri, 2020). İnsan vücudu için güvenilir dozlar; kanama tedavisi ve safra yollarını rahatlatmak için akupunktur noktalarına enjeksiyon ile primer dismenore tedavisinde etkisi gösterilmiştir. Bu nedenle uygun dozlarda güvenlidir. Fakat yüksek dozlarda potansiyel hemolitik anemi ve karaciğer hasarı riskleri bildirilmiş olduğundan ABD gıda ve ilaç dairesi tarafından onaylanmamaktadır (Zhang ve diğerleri, 2018; Ejder ve Ekici, 2024). Fakat prostat kanseri ve deri zehirlenmelerinde kullanılmaktadır (Ejder ve Ekici, 2024). Potansiyel hemolitik toksisitesine rağmen az gelişmiş ülkelerde halen vitamin takviyesi olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni çok kolay sentezlenebildiği için ucuz olması ve ışıktaki çok hızlı parçalanabilen doğal K vitaminlerinin aksine uzun süre stabil kalabilmesidir ve düşük dozlarda güvenilir olarak kullanılabilir (Zheng ve diğerleri, 2021).



Şekil 3. Menadionun redoks döngüsü (Bakalova ve diğerleri, 2019).

2.3.3.1. Menadionun Nöroprotektif ve Analjezik Potansiyeli

Kimyasal yapısı, 1,4-naftokinon türevi olan MSB, iyi çözünürlük özelliklerine sahip olup, toksik protein agregasyonunu önleme potansiyeli taşımaktadır. MSB hem in vitro hem de in vivo modellerde toksik amiloid agregasyonunu önleyen ve buna bağlı hücresel zararı azaltan etkili bir bileşik olarak tanımlanmıştır. Aynı zamanda düşük toksisite profiliyle Alzheimer hastalığı gibi protein yanlış katlanması temelli hastalıkların tedavisinde potansiyel bir aday olarak değerlendirilmektedir (Zhang ve diğerleri, 2018). İn vitro deneylerde MSB'nin amyloid fibril oluşumunu azalttığı ve bu agregatların hücre zarına zarar verme etkisini azalttığı gösterilmiştir. Transgenik *C. elegans* modeli kullanılarak yapılan in vivo çalışmalarda ise MSB'nin amiloid agregasyonunu baskıladığı ve bu solucanların yaşam süresini anlamlı şekilde uzattığı bulunmuştur. MSB'nin etki mekanizmasının temelinde, molekülün sahip olduğu “kinon” halkasının yer aldığı belirtilmiştir. Yapılan karşılaştırmalı analizlerde, lipofilikliğin bu etki üzerinde belirleyici olmadığı, asıl etkinin kinon iskeletinden kaynaklandığı anlaşılmıştır. MSB, test edilen dozlarda herhangi bir toksik etki göstermemiştir; bu da onun güvenli bir aday olduğunu düşündürmektedir (Zhang ve diğerleri, 2018). Menadionun mitojenle aktiveşen protein kinaz (MAPK) sinyal yoluna etki ederek ağrıyı hafifletebileceği gösterilmiştir. Vit K3' ün

muhtemelen sinir hücrelerinde ROS'un azaltılması yoluyla sinir hücresine zarar vermeden ERK (ekstraselüler sinyal-regüle edilmiş kinaz) ekspresyonunu etkileyerek analjezi sağlayabildiği gösterilmiştir. Menadionun güvenli düşük doz aralıklarında oligodentrisit ve nöronlarda birikmiş ROS'u temizleyen bir serbest radikal temizleyici olarak hareket ettiği görülmüştür. ERK' in aşağı regülasyonu sinir hücresinin kendisine zarar vermeden hücre fonksiyonların daha da baskılanmasına neden olduğu tahmin edilmektedir. Diğer çalışmalarda gösterilen proapoptotik etkileri göz önüne alındığında ROS üretimine neden olduğu gösterilen menadionun güvenli doz aralıklarında hücre canlılığı ve nöropatik duyarlılaşma üzerine etkili olabileceği vurgulanmaktadır. ROS, hücre içinde MAPK' ler gibi çok çeşitli hücre içi sinyal molekülleri ile doğrudan etkileşime girerek sinyal yollarını başlatır. Menadion dozlarının ürettiği ROS seviyeleri flöresan yoğunluklarına göre incelendiğinde, 0 $\mu\text{mol/L}$ iken daha fazla, 5 $\mu\text{mol/L}$ iken daha az; fakat 10 $\mu\text{mol/L}$ de 5 $\mu\text{mol/L}$ den daha fazla ve 20 $\mu\text{mol/L}$ iken en fazla olacak şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu menadionun güvenli doz aralığında kullanıldığında MAPK sinyal yolunda etkili olduğunu düşündürmektedir (Yang ve diğerleri 2018).

2.3.3.2. Menadionun Antihipotansif Potansiyeli

İzole edilmiş endotelyumlu sıçan aort halkaları üzerinde yapılan çalışmalarda menadion uygulamasının endotelyumlu aort halkalarında asetilkolin ve histamin kaynaklı gevşemeyi zamana ve doza bağlı olarak engellediği fenilefrin ve serotonin kaynaklı vazokonstriksiyonu güçlendirdiği gösterilmiştir. Sıçanlara intravenöz uygulandığında asetilkolin kaynaklı kan basıncı düşüşünü engellemiştir. Buna karşın endotelyumsuz aort halkaları üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir. Böylelikle menadion tedavisi asetilkolin kaynaklı hipotansif etkiyi azaltarak kan basıncını arttırmıştır. Bu yönüyle vasküler hastalıkların gelişme riskini azaltma potansiyeli taşımaktadır (Lee ve diğerleri, 1999).

2.3.3.3. Menadionun Antibakteriyel Potansiyeli

İlaca dirençli patojenik bakterilere karşı yapılan çalışmalarda ex vivo domuz derisi üzerinde yapılan biyofilm uygulamalı yara enfeksiyon modelinde üç farklı bakteri türüne karşı yapılan antibakteriyel mavi ışık tedavisinde topikal olarak uygulanan menadionun sinerjik etki ile tedavi etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir. Menadion; E coli ve planktonik hücreler üzerinde antibakteriyel mavi ışık tedavisinin etkisini güçlendirmiştir ve bu etkiler doza bağımlı olarak artmıştır. E. Coli bakterilerinde ise direnç daha fazla olmasına rağmen yine de öldürme gücünde sinerjik artış sağlanmıştır. Enfeksiyon fototerapisinde mavi ışık tarafından oluşturulan ROS üretimini arttırdığından menadionun, adjuvan bir tedavi olarak ortaya konabilmiştir. Mavi ışığın etki mekanizması, endojen kromofllar tarafından absorbe edilerek fotokimyasal reaksiyonları başlatması olarak kabul edilmektedir. Menadion ve diğer kinonlar hücresel solunumda elektron taşınma zincirindeki elektronlarla oksijenin katalitik indirgenmesi yoluyla ROS üretiminde rol alırlar ve bu ROS bakterilerde oksidatif hasara neden olur. Ayrıca menadion aerobik koşullar altında kültürlendiğinde S. Areus için 4 kat daha fazla bakteri öldürücü olduğu ve bunun da muhtemelen menadionun redoks döngüsünün indükleyicisi rolü almasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Negri ve diğerleri, 2023).

2.3.3.4. Menadionun Antikanser Potansiyeli

VK tipi arasında, VK3 kanser hücreleri üzerinde etkili inhibitör etkilere sahiptir. Ancak yüksek toksisiteye sahip olduğundan genellikle kanser tedavisi için kullanılmaz. VK2 ayrıca, VK3'e kıyasla daha zayıf bir etkiyle kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe edebilirken, VK1 en zayıf işleve sahiptir (Xie ve diğerleri, 2024). Kanserde mekanizması henüz keşfedilmiş olmasa da hayati öneme sahip mitokondri işlevsizdir ve bu kanserin ayırdedici özelliğidir ve bu nedenle hedefe yönelik tedavilerde kullanılır. Birçok etken madde mitokondri üzerinde etkili olsa da kanserli mitokondri için seçici olup olmadıkları veya normal hücrelere de saldırıp saldırmayacakları net biçimde ortaya konamamaktadır. Bu da antikanser tedavi araştırmaları için zorlayıcı bir durumdur. Menadion ve askorbat mitokondriyal taşıma zincirine müdahale ederek mitokondriyal solunumu etkilemektedir ve

bu yönüyle mitokondriyal hastalıkların tedavisinde kullanılabilir. (Bakalova ve diğerleri, 2020). Menadion ve askorbat ayrı ayrı veya birlikte kullanıldığında hücre içi ROS (süperoksit ve hidrojen peroksit) indükleyiciler olarak görev yaparlar. Menadion bir elektron veya iki elektronla yarı kinon ve menadiol' e dönüştürülebilir. Menadion ve askorbatın antikanser etkileri vitamin aktivitelerine bağlı değildir. Seçici sitotoksik etkiler için bilinen hedef, hücre dışı boşluk ve sitozolde meydana gelen enzimatik olmayan redokstur. Enzim aracılı reaksiyonlar enzimatik olmayanlara göre daha hızlı ve olumludur. Enzimatik reaksiyonlar ile menadion semikinona indirgenir. Sonrasında semikinon süperoksit üretimi ile enzimatik olmayan bir şekilde oksitlenir. Menadion hücrelerde menadiol halinde bulunur (Bakalova ve diğerleri, 2020). Yapılan bir çalışmada menadion ve askorbat kombinasyonu lösemik lenfositlerin proliferasyon aktivitesini konsantrasyona ve zamana bağlı azaltmıştır. Fakat ayrı ayrı uygulanması hücre canlılığını etkilememiştir. Normal hücrelerde kombinasyon menadiona benzer etkilere neden olmuştur. Menadion askorbat kombinasyonu, kanser epiteline karşı normal hücrelerde olmayan bir şekilde seçici sitotoksikite sergilemiştir. Sonuçta kombinasyonun bu hedefe yönelik antikanser etkisi işlevsiz mitokondri içindeki her iki madde arasındaki seçici redoks döngüsüne bağlanmaktadır. Bu kombinasyon kanser hücrelerinde aşırı mitokondriyal süperoksit üretimine neden olurken aynı kökene sahip normal hücrelerde olmamıştır. Kombinasyonun düşük dozları bile mitokondriyal membran potansiyelinde zamana bağlı bir azalma ortaya çıkarmıştır. Dolayısıyla menadion ve askorbat birlikte mitokondriyal oksidatif stres ile sinerjik bir antikanser etki sergilemişlerdir. Bu kombinasyon bu nedenlerle kanser tedavisinde adjuvan bir tedavi olarak önerilmektedir (Bakalova ve diğerleri, 2020). Menadionun antikanser etkileri çoğunlukla mitokondri ile ilişkilendirilmektedir. Menadion ve askorbat normal hücrelerde iyi tolere edilmiş ve mitokondriyal süperoksidin daha az bir artışıyla daha düşük düzeyde bir oksidatif hasara neden olmuştur. Bu şekilde uygulanan menadion ve C vitamininin parenteral uygulanması sinerjistik bir sitotoksikiteye neden olarak antikanser ilaçlara daha fazla duyarlılık kazandırmıştır. Bu birlikte uygulama düşük dozlarda kanser hücrelerinde geri dönüşü olmayan bir sitotoksikiteye neden olmasa da geri dönüşümsüz metabolik değişikliklere neden olmuştur (Bakalova ve diğerleri, 2020). Yeni nesil ilaçlarda antitümör etkileri arttırabilmek ve toksisiteyi azaltmak için proteazom inhibitörleri geliştirilmektedir. Bortezomib ve MSB'nin kombinasyon halinde kullanılması farelerde Bortezomib'in tek başına kullanımına göre akut toksisiteyi azaltmış ve 4-10 kat

daha az miktarda kullanılmasını sağlamıştır. Menadion sodyum bisülfid (MSB), NADH'ın oksidasyonu yoluyla süperoksit radikallerini oluşturarak ve sonuçta proteazom fonksiyonunu bozarak antitümör etkiler göstermiştir (Astakhova ve diğerleri, 2018). K3 vitamininin (menadion) insan kolorektal kanser hücrelerinde epitel-mezenkimal geçişi ve farklılaşmayı desteklediği bu yönüyle de umut vadeden bir kemoterapi ilacı olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Kishore ve diğerleri, 2019). K3, DNA polimeraz ile doğrudan etkileşim ile enzim aktivitesinin inhibisyonu yoluyla, ex vivo ve in vivo anjiyogenez testinde incelenen anti-anjiyojenik etki göstermiştir. Bu yönüyle K3'ün bir anti-tümör ajanı olarak işlevini göstermektedir (Matsubara ve diğerleri, 2008).

2.3.3.5. Menadion ve Oksidatif Stres

Menadionun farmakolojik etkileri redoks döngüsüne katılabilmesinden kaynaklanmaktadır. Yapısında bulunan kinon halkası, elektron alıp vererek reaktif oksijen türleri (ROS) üretebilir. Bu özelliğiyle hem antioksidan sistemleri aktive edebilir hem de yüksek dozlarda oksidatif strese neden olabilir. Bu durum menadionun doza ve hücreyel bağlama bağlı olarak pro-oksidan ya da antioksidan etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır (Shertzer ve diğerleri, 1992; McAmis ve diğerleri, 2003). Deneysel çalışmalarda, menadion uygulaması sonrasında SOD, GSH ve CAT gibi enzim düzeylerinde azalma, MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinde ise artış bildirilmiştir. Bu bulgular menadionun ROS üretimini artırarak antioksidan savunmayı baskılayabileceğini, böylece hücreyel düzeyde oksidatif stres oluşturabileceğini göstermektedir (Balogun ve diğerleri, 2018). Bununla birlikte, indirgenmiş menadion formu, özellikle model membran sistemlerinde serbest radikal temizleyici özellik göstermiştir, lipid peroksit radikalleriyle α - tokoferolden daha hızlı reaksiyona girdiği ve membran yüzeyine lokalize olarak zincir başlatma oranını düşürebildiği gösterilmiştir. (Fiorentini ve diğerleri., 1997). Menadionun insan sağlığı açısından terapötik potansiyeli, doğal polifenollerle kombine edildiğinde daha belirgin hale gelmektedir. Özellikle naringenin ve lignin ile birlikte kullanıldığında DPPH ve ABTS radikal süpürme kapasitesinde sinerjik artış bildirilmiştir. Bu kombinasyonlar, tek başına saf menadion veya diğer bileşiklere göre daha yüksek antioksidan etki oluşturmuştur (Yaneva ve diğerleri, 2023). Menadionun terapötik etkileri, hücreyel çoğalma, DNA hasarı

ve apoptoz süreçlerinde de değerlendirilmiştir. Bazı çalışmalarda menadion, kontrollü dozlarda hücre proliferasyonunu baskılayarak antikanser potansiyel göstermiştir. Bu etki hem ROS üretimi hem de glutatyon tükenmesi yoluyla gerçekleşmektedir (Deniz ve diğerleri, 2020; Carpentieri ve diğerleri, 2014). Bununla birlikte, yüksek doz menadion uygulaması glutatyon rezervlerinin tükenmesine, tiyol gruplarının inhibisyonuna ve hücresel membran bütünlüğünün bozulmasına neden olabilir. Bu etkiler, özellikle hepatositler ve endotel hücrelerinde ciddi toksisite ile sonuçlanabilir. ROS üretiminden bağımsız mekanizmalarla gelişen membran akışkanlığı bozukluğu ve iyon dengesizlikleri de menadionun toksik etkilerine katkı sağlar (Shertzer ve diğerleri, 1992; McAmis ve diğerleri, 2003). Yamashoji (2016) tarafından yürütülen çalışmada, menadion sodyum bisülfid (MSB) formunun NAD(P)H üzerinden ROS üretimi ve hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri değerlendirilmiş, bu formun maya hücrelerinde redoks aracı olarak hücre çoğalmasını baskıladığı gösterilmiştir (Yamashoji, 2016). Menadionun elektron indirgenmesi sonucunda oksijen ile reaksiyona girerek ROS üreten ve böylece oksidatif strese neden olan kararsız serbest radikallerin oluşumuna katkı sağladığı biliniyor olsa da tek elektron transfer enzimleri ile ilişkisi de dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla lipid peroksidasyonunu baskıladığı ve mikrozomlarda lipid peroksidasyonunun etkili bir inhibitörü olduğu bildirilmiştir. Böylelikle K3 vitamininin indirgenmiş formları antioksidan aktiviteler gösterebilir (Tampo ve Yonaha, 1996). K3 vitamininin insan sağlığına yönelik tepkilerinin anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu ve modern bilimsel çalışmalar yapılmasını öneren Yaneva ve diğerleri (2023) çalışmasında K3 vitamininin naringenin ve lingin ile sinerjik antioksidan etkileri incelenmiştir. Üç bileşik ayrı ayrı DPPH ve ABST analizlerine tabi tutulduğunda K3 vitamini naringenin yaklaşık 6 katı kadar DPPH aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Bunlar, yüksek fenolik hidroksil gruplarının daha yüksek antioksidan potansiyele yol açmadığını göstermiştir (Yaneva ve diğerleri, 2023). Bu üç bileşik içinde en az düzeyde ABST gücüne sahip olsa da üç bileşiğin kombinasyonu durumunda en yüksek düzeyde sonuçlar elde edilmiştir. Naringenin serbest radikalleri temizleme yeteneği ile K3 vitamininin antioksidan enzim aktivitesini destekleme potansiyeli birbirini tamamlayarak sinerjik etki ile daha yüksek bir antioksidan etki sergilemiştir. Lignin ve naringenin kombinasyonuna K3 vitamini eklenmesi ile ABTS temizleme potansiyeli %31,5 oranında önemli ölçüde artmıştır. Bu etki muhtemelen naringenin ve lignin makromolekülleri tarafından deprotonlanan H^+ ile yarı-geri dönüşümlü

ilk aşamada semikinon oluşumu ve bunu izleyen ikinci aşamada bir dianyon radikalının oluşumu ile ilişkili bir reaksiyonu içeren iki aşamalı bir redoks sürecine katılımından kaynaklanmaktadır (Yaneva ve diğerleri, 2023). Ayrıca, Vitamin K3 besin takviyesin, kanatlı hayvanların bağırsak antioksidan kapasitelerinin üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda plazmada IgG içeriğinin CAT ve SOD ile toplam antioksidan kapasitenin önemli ölçüde arttığı ve jejenumda Nrf2, SOD ve CAT'ın yukarı regülasyonu ile İNOS mRNA seviyelerinin aşağı regülasyonu ile diyetle vitamin K3 eklenmesinin antioksidan kapasiteyi iyileştirdiği gösterilmiştir. Fakat bu çalışmada MDA ve GSH-Px üzerinde anlamlı bir etki gözlenmemiştir ve dozun artırılmasıyla etkiler güçlenmemiştir (Li ve diğerleri, 2022). Sonuç olarak, menadionun etkileri oldukça çift yönlüdür: Düşük dozlarda ve uygun kombinasyonlarla antioksidan ve terapötik etkiler, yüksek doz ve kontrolsüz maruziyette oksidatif stres ve toksisite oluşturabilir. Bu nedenle kullanım dozu, formu, süresi ve kombinasyonu, etkilerini belirleyen en kritik faktörlerdendir.

Yamashoji (2016) tarafından yürütülen bir in vitro çalışmada, menadion (vitamin K3) ile menadion sodyum bisülfid (MSB) arasındaki redoks özellikleri ve hücresel etkiler karşılaştırılmıştır. Çalışmada, her iki bileşiğin maya hücreleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiş; hücre zarından geçiş, oksidatif stres oluşturma potansiyeli ve hücre çoğalması üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Menadion, lipofilik bir bileşik olarak hücre zarını serbestçe geçebilmekte ve hücre içinde hızlıca redoks döngüsüne girerek NAD(P)H oksidasyonuna ve yüksek düzeyde reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine neden olmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı menadionun maya hücrelerinde hücre çoğalmasını belirgin şekilde baskıladığı gözlemlenmiştir. Ayrıca ROS üretimi süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin varlığıyla kısmen engellenebilmiştir. Buna karşın MSB, suda çözünmeyen ve iyonik yapısı nedeniyle hücre zarından geçemeyen bir bileşiktir. MSB, hücre dışı redoks sistemlerinden elektron alabilir ancak hücre içi redoks döngüsüne doğrudan katılamaz. Bu nedenle, ROS üretim düzeyi menadiona kıyasla oldukça düşüktür ve hücre çoğalması üzerinde belirgin bir baskı oluşturmaz. NAD(P)H tüketimi de menadiona göre çok daha azdır. Sonuç olarak, MSB'nin hücre içi stres yaratma potansiyeli düşüktür ve menadion ile karşılaştırıldığında daha düşük toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmaya göre, menadion yüksek redoks potansiyeline sahip olmasına rağmen hücre içi ROS üretimi ve lipofilik özelliklerinden kaynaklı toksisite riski taşıırken; MSB ise daha

düşük redoks aktivitesine sahip ancak biyolojik sistemlerde daha kararlı ve güvenli bir alternatif olarak değerlendirilmektedir (Yamashoji, 2016).

2.3.3.6. Menadionun İnflamasyon Üzerindeki Etkileri

Yapılan çalışmalarda Plazma filokinon/filokinon alımı ile dolaşımdaki IL-6 arasındaki ters korelasyonun kanıtlandığı gibi, K1 vitamininin antiinflamatuvar etkisi insanlarda da rapor edilmiştir. İn vitro çalışmalar, MK-3, MK-4 ve MK-7 vitaminlerinin makrofajlar ve makrofaj benzeri hücrelerde sitokin üretimini (IL-1, IL-6 ve TNF α) azalttığını göstermiştir. K vitaminlerinin makrofajlarda NF κ B aktivitesinin düzenlenmesi, diğer hücre tiplerinde ise mitokondriyal fonksiyonun düzenlenmesi gibi mekanizmalar önerilmiştir. K vitaminlerinin (K1, K3, MK-4, MK-5, MK-6 veya MK-7) hiçbir formu uyarılmamış makrofajlarda mitokondriyal fonksiyonu iyileştirmedi. LPS ile uyarılmış fare makrofaj hücrelerine hücrelerine uygulanan eksojen K vitaminleri formlarının (K1, K3, MK-4, MK-5, MK-6 ve MK-7) NO, COX-2, PGE₂ aşağı regülasyonu, (IL-6 ve TNF α) ile antiinflamatuvar etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Özellikle K1, K3, MK-4 ve MK-5 gibi daha kısa izoprenoid zincirlere sahip K vitaminleri formları, daha uzun izoprenoid zincirlere (MK-6 ve MK-7) sahip formlardan daha güçlü anti-inflamatuar aktivite sergilemiştir. Bu da daha kısa formların menadiol dönüşümünün daha kolay olmasına atfedilmektedir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). K vitaminlerinin çeşitli formlarının substrat olarak hizmet etme etkinliği açısından translasyon sonrası γ -karboksilasyon, K3 için en zayıf etkilere işaret etmiş olsa da yapılan deneylerde K3'ün, makrofaj hücre hatları üzerinde anti-inflamatuar etkilerin tetiklenmesinde K vitaminlerinin daha güçlü formları arasında yer aldığı gösterilmiştir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). Eksojen öncüllerden endojen MK-4'ün üretimi bağırsak bakterilerinde, böbreklerde, beyinde, bağırsaklarda ve endotelde tanımlanmış olsa da daha sonra yapılan çalışmalarda makrofajların eksojen K1, K2 veya K3 vitaminlerinden endojen MK-4 vitamini ürettiğine dair kesin kanıtlar elde edilmiştir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). K2' nin vazoprotektif mekanizmalar dahil ekstrahepatik aktivite, K1'in ise hepatik aktivite yoluyla pıhtılaşmada rol aldığı bilinirken, eksojen K1 ve MK-4 dahil olmak üzere çeşitli K vitaminlerinin anti-inflamatuar aktivite sergilediği görülmüştür ve bu etki statinler tarafından inhibe edilmiştir. Burada MK-4 sentezini sağlayan enzimlerin dışında bir

mekanizma olduğunu görülmektedir. K1, K3 ve MK-5 dahil olmak üzere bazı eksojen K vitaminleri formlarının fare makrofaj hücrelerinde endojen MK-4 sentezinde substrat olarak görev aldığı gösterilmiştir. Yine de eksojen K vitaminlerinin bu anti-inflamatuar etkilerinin endojen MK-4'e atfedilemediği, ancak NFκB'ye bağımlı yolun inhibisyonuna atfedildiği bilinmektedir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). Ayrıca mikromolar konsantrasyonda eksojen K3 vitamini yüklemesi nanomolar konsantrasyonuyla endojen MK-4'ün sonuçlanmıştır. (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). K2 vitamini, inflamasyon sırasında mitokondri membranına bağlı bir elektron taşıyıcısı olarak hareket edebilse de fare makrofaj hücre dizilerinde K vitaminlerinin antiinflamatuvar etkisinin mitokondriyal fonksiyon üzerinde hiçbir etkisi olmadığını görülmüştür. K3 ve analoglarının, LPS ile uyarılan makrofajlarda NFκB aktivasyonunu ve IKK'nın fosforilasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. K vitaminlerinin endojen dönüşümünün ara ürünü olan menadion, makrofajlarda NOS-2, COX-2, sitokinler ve NFκB tarafından düzenlenen antiinflamatuvar yola aracılık eder. Bu nedenle, K vitaminlerinin antiinflamatuvar etkileri NFκB yolunun düzenlenmesine atfedilebilir. Makrofajların fonksiyonunun düzenlenmesinde endojen MK-4'ün rolü henüz belirlenmemiştir (Kieronska-Rudek ve diğerleri, 2021). Vitamin K' nın fare kolit modellerinde IL-6' yı azalttığı ve antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve bakteri florasını iyileştirdiği gösterilmiştir (Lai ve diğerleri, 2022). Sıçanlarda çekal ligasyon delinmesi ile oluşturulan sepsis modelinde, K3 vitamininin sepsis modelinde sepsisin erken evresinde antibiyotik ve steroidlerle birlikte ek olarak kullanılması ilaçların koruyucu etkilerini kötüleştirerek, TNF-α, IL-1, IL-6 düzeylerinde yüksek artışlara neden olmuş ve hayvanların hayatta kalamamasına neden olmuştur. Bu çalışmada hayvanlara sepsis indüksiyonundan 1 saat sonra, 3 gün boyunca, libavit adıyla menadion sodyum bisülfid verildiğinde sepsisi şiddetlendirmiştir. Menadionun sepsis gibi akut sistemik inflamatuvar durumların erken evresinde tek başına veya kombine kullanımının olumsuz etkiler doğurabileceğini, dolayısıyla koagulopati ile mücadelede dikkatle değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir (Özkanlar ve diğerleri, 2016). K3 vitamininin dokulardaki depo şekli olan K2 vitamini tedavisinin DSS ile oluşturulan ülseratif kolit modelinde kolon uzunluklarında artış, histopatolojik olarak kript hasarı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca proinflamatuvar sitokinler olan IL-1β, IL-6 ve TNF-α düzeylerinde azalma, buna karşın immünosupresif IL-10 düzeylerinde artış tespit edilmiştir (Hu ve diğerleri, 2023).

Yapılan bazı çalışmalar menadionun antiinflamatuvar etkilerini ortaya koymaktadır. Cerulein enjeksiyonu ile indüklenen akut pankreatit ve buna bağlı çoklu organ hasarı sonrası gelişen akciğer hasarı fare modelinde cerulein enjeksiyondan 1 saat sonra 10 mg/kg dozunda saf formda oral uygulandığında nükleer faktör NF- κ B ve IL-1 β inhibisyonu yoluyla inflamasyonu azaltarak antiinflamatuvar etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Pankreas ile akciğerde cerulein ile artmış olan MPO düzeylerinde azalmaya neden olmuştur. Pankreasta histolojik olarak gözlenen, nötrofil infiltrasyonu, ödem, asinüs hücre hasarı ve nekrozun belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir. Bunun yanında pankreas hasarında hızla artmış olan serum amilaz aktivitesi menadion ile azalmıştır. Menadionun bu korumada hücre içi moleküler sinyal yollarında hidrojen sülfür seviyelerinin azaltarak ve bu yolağın temel enzimi olan sistatyonin-y-liyazı inhibe ederek etki gösterdiği bildirilmiştir (Amiti ve diğerleri, 2019). LPS kaynaklı inflamasyonda vitamin K3 (menadion) ile tedavisi, lenfositlerde GSH/GSSG oranını azaltmış, bağışıklık hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına neden olmuş ve bu tedavi lenfositler ve CD4⁺ T hücrelerinde proliferasyon ile sitokin üretimi baskılanmıştır. Menadionun bu immünosupresif etkileri yalnızca tiyol grubu içeren antioksidanlar (örneğin glutatyon, GSH) tarafından geri çevrilebilmiştir. Öyle ki; menadionun GSH ile doğrudan etkileşime girerek etki göstermiştir. Menadion, Concanavalin A ile uyarılan lenfositlere uyarılmadan önce uygulandığında NF- κ B sinyal yollarını baskılayarak IL-2, IL-6 ve IFN- γ üretiminde belirgin azalmaya yol açmıştır. Menadion ayrıca T hücrelerinin ko-stimülasyona bağlı proliferasyonunu da baskılamış ancak apoptozu ve sitotoksositeye neden olmadan canlılığı korumuştur. Uyarılmamış T hücrelerinde menadion herhangi bir sitotoksositeye yol açmamıştır (Checker ve diğerleri, 2011). Fare makrofajlarında ise LPS stimülasyonu öncesi uygulandığında TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve NO üretimini anlamlı şekilde baskılamıştır. NF- κ B'nin sitoplazmadan çekirdeğe translokasyonu ve alt birimlerinin DNA'ya bağlanma yetisi menadion tarafından tamamen inhibe edilmiştir. Çalışma sonucunda, menadionun antiinflamatuvar etkilerinin ROS üretme kapasitesinden ziyade, hücresel tiyoller modüle etme yeteneğine bağlı olduğu ve bu etkilerin MAPK ve NF- κ B sinyal yollarının inhibisyonu yoluyla ortaya çıktığı gösterilmiştir (Checker ve diğerleri, 2011). Menadionun antiinflamatuvar etkilerinin temelinde NF- κ B sinyal yolunun baskılanması yer almaktadır. Menadion, immünmodülatör etkilerini reaktif oksijen türleri üretiminden çok, tiyol modülasyonu ve MAPK/NF- κ B sinyallemesinin baskılanması yoluyla gerçekleştirdiğini göstermektedir (Checker ve diğerleri, 2011).

Menadion Hpylori kaynaklı enfeksiyonda, NF- κ B inhibisyonu ile aynı zamanda IL-1 β IL-6, IL-8 ve TNF-alfa dahil proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe etmiştir. Aynı zamanda mitokondriyal membran değişiklikleri ve sitokrom C salınımını önleyerek apoptozu ve inflamasyonu önlemiştir (Lee ve diğerleri, 2019). İn vitro çalışmalar da menadionun inflamasyon üzerindeki güçlü etkilerini göstermiştir. İnsan böbrek hücre hattı ve fare makrofaj hücre hatları vitamin K3 ile muamele edildikten sonra TNF- α veya LPS ile uyarıldıklarında, vitamin K3 her iki hücrede de NF- κ B alt biriminin çekirdeğe transportunu baskılamış, DNA'ya bağlanma aktivitesini azaltmış ve TNF- α üretimini anlamlı şekilde düşürmüştür (Tanaka ve diğerleri, 2010). İn vivo deneylerde ise, LPS ile indüklenen akut akciğer hasarı (ARDS) modelinde 100 mg/kg dozunda mısır yağında çözündürülerek hayvanlara verilen menadion indüksiyondan 30 dk önce verildiğinde 1 saat sonra TNF-alfa düzeylerini azaltmış, 6 saat sonra da akciğer dokularında ödem, alveolar yapı bozukluğu ve nötrofil infiltrasyonu azalmıştır. Bu etki NF- κ B nükleer transportunun da vitamin K3 tedavisi ile baskılanması yoluyla meydana gelmiştir. 24 saat sonra bronkoalveoler lavaj sıvısında toplam hücre ve nötrofil sayısı da kontrol grubuna göre belirgin şekilde düşmüştür (Tanaka ve diğerleri, 2010). Antiinflamatuvar etkinin yalnızca sinyal yollarının inhibisyonuna değil, aynı zamanda oksidatif stresin düzenlenmesine de bağlı olabileceğine dikkat çekilmektedir. Vitamin K3'ün reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve redoks sistemi üzerinde etkili bir düzenleyici olduğu; bu mekanizmalar yoluyla NF- κ B sinyallemesini dolaylı yoldan da baskılayabileceği belirtilmiştir (Tanaka ve diğerleri, 2010). LPS kaynaklı inflamasyonda in vitro fare makrofaj hücrelerinde vitamin K3 ve K4'ün, inflamasyon belirteçleri olan IL-1 β salınımını ve kaspaz-1 aktivasyonunu anlamlı şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Buna karşılık, yağda çözünebilen doğal vitamin K1 ve K2 formlarının bu inflamatuvar yanıt üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Çalışma aynı zamanda vitamin K3 ve K4'ün yalnızca NLRP3 inflammasomu üzerinde etkili olduğunu, diğer inflammasom türleri üzerinde herhangi bir baskılayıcı etkisinin olmadığını ortaya koymuştur. Farklı vitamin K formlarının etkisi değerlendirildiğinde ve yalnızca suda çözünebilen vitamin K3 ve K4'ün inflamasyonu, NLRP3 engelleyerek baskıladığı buna karşılık yağda çözünebilen vitamin K1 ve K2'nin herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca bu etkilerin, vitamin K'nin klasik koenzim fonksiyonlarından bağımsız olduğu ve geri döndürülebilir olduğu gösterilmiştir. GGCX'e bağımlı γ -glutamil karboksilasyonu NLRP3 aktivasyonu için gerekli değildir. Bu nedenle K vitamini koenzim

aktivitesinden bağımsız olarak NLRP3 inflamatuvarını inhibe etmektedir. Bu etki, hücre içi potasyum kaybı veya mitokondriyal stres gibi inflamasyonun yukarı akış sinyallerinden bağımsızdır (Zheng ve diğerleri, 2021). İn vivo olarak ise farelerde Monosodyum ürat ile oluşturulan peritonit modelinde, K3 vitaminin suda çözünür formu olan menadion sodyum bisülfid (MSB) farelere inflamasyon indüksiyonundan 30 dakika önce intraperitoneal yolla 4 mg/kg dozunda uygulanmıştır. Tedaviden 6 saat sonra fareler kurban edilmiş ve periton sıvısında IL-1 β düzeyi ve nötrofil infiltrasyonu anlamlı düzeyde azalttığı gözlemlenmiştir (Zheng ve diğerleri, 2021). İn vitro fare peritoneal makrofaj hücrelerinde düşük konsantrasyon aralıklarında menadion sitotoksiste gözlenmeden TNF- α üretimi anlamlı düzeyde baskılamıştır (Aoganghua ve diğerleri, 2011). İn vivo deneylerde ise DSS kolit modelinde 8. günden itibaren 20 mg/kg/gün dozunda, oral yolla uygulandığında 12. günde kolon hasarını, inflamatuvar skorları ve TNF- α mRNA ekspresyonunu anlamlı biçimde azaltmıştır. Bu deneylerde saf 1,4-naftakinon yapısındaki bileşik en güçlü etkiyi göstermiştir. Bu nedenle antiinflamatuvar etkilerin kinon yapısına dayandığı öne sürülmüştür (Aoganghua ve diğerleri, 2011).

Menadionun ROS üretimine karşı eş zamanlı olarak NAD(P)H'nin da azalmasıyla birlikte menadionun pankreas asiner hücrelerinde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (Criddle ve diğerleri, 2006). Pankreatitte asiner hücre nekrozunun hastalığı şiddetlendirdiği fakat hafif akut apoptozun ise hastalığa karşı koruduğu bu nedenle asiner hücrelerin menadion ile daha apoptozunun uyarılması cerulein kaynaklı pankreatitte koruyucu etkiler göstermiştir. Buna göre menadion, reaktif oksijen türleri (özellikle süperoksit) üreterek hücrelerde nekroz oluşturmada apoptoz indüklemektedir. Bu apoptotik süreç; mitokondriyal membran depolarizasyonu, sitoplazmik kalsiyum artışı, sitokrom c salınımı ve kaspaz aktivasyonu gibi moleküler olayları içermektedir (Bhatia, 2004). Chinzei ve diğerleri (2011), cerulein ile indüklenen akut pankreatit modelinde ardından mısır yağında çözündürülen VK3 100 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak ya sadece ilk cerulein dozundan hemen önce ya da hem önce hem 2 saat sonra uygulanmıştır. Cerulein enjeksiyonundan 8 ve 24 saat sonra pankreatik doku ve serum örneklerinde serum amilaz aktivitesi ve tripsinojen aktivasyon peptidi düzeyleri ile değerlendirilen sonuçlara göre VK3 uygulaması, pankreatit şiddetini anlamlı şekilde azaltmıştır. Özellikle çift doz VK3 uygulaması, en belirgin iyileştirici etkiyi göstermiştir. Çalışmanın en dikkat çekici bulgusu, VK3'ün bu koruyucu etkisini cerulein kaynaklı otofaji yolunu baskılayarak gerçekleşmesidir. Ayrıca, in vitro

rapamisin otofajisinde VK3'ün, VK1 ve VK2'ye kıyasla daha güçlü bir otofaji baskılayıcı olduğu bulunmuştur (Chinzei ve diğerleri, 2011). Özellikle kronik inflamatuvar artrit modeli uygulanan tavşanlarda oral menadion tedavisi, sinovyum dokusunda glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesinde anlamlı azalma ve eklemdaki makrofaj sayısında düşüş ile ilişkili bulunmuştur. Bu etkinin, menadionun vücutta vitamin K2 (menaquinon-4) formuna dönüşümünden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Hodges ve diğerleri, 2017).

Vitamin K3, yapısında kinon grubu barındıran bir bileşiktir. Kinonlar, aromatik bileşiklerden türeyen ve yapılarında iki karbonil (C=O) grubu ile konjuge çift bağlar içeren, tamamen konjuge siklik diketon yapılarıyla tanımlanan organik bileşikler sınıfıdır. Bu bileşikler, biyolojik sistemlerde alkilleyici özellikler gösterebilir ve flavoproteinlerle etkileşime girerek reaktif oksijen türleri (ROS) üretimine neden olabilirler. Bu özellikler, kinon türevlerinin hem anti-inflamatuvar hem de potansiyel toksik etkileri açısından önemlidir (Aoganghua ve diğerleri, 2011). Kinonların in vitro COX-1 ve COX-2 inhibe etme yetenekleri fare fibroblast hücre hattında sitotoksikite testleri ile çalışılmıştır. Kinon tipi COX inhibitörleri redoks dışındaki mekanizmalarla prooksidan etkiyi ortadan kaldırır. COX inhibitörleri olan neredeyse tüm kinonlar aynı zamanda güçlü epinefrin oksidanlarıdır. Prooksidan aktiviteleri COX-1 inhibisyonu ile ilişkilidir. Epinefrin oksidasyonu ile COX-2 inhibisyonu arasında bir korelasyon gözlenmiştir. COX enzimlerinde seçici olmayan inhibisyona neden olur. Bu radikaller demire erişerek COX'u engeller ve burada peroksidaz reaksiyonu gerçekleşir. Naftakinon halkası molekülün indirgenmesini engeller. Naftakinonlar glutatyon, NADH gibi indirgeyici substratlarla reaktivite gösterir (Landa ve diğerleri, 2012). Menadionun hem COX-1 hem de COX-2 enzimleri üzerinde anlamlı bir inhibisyon göstermediği bildirilmiştir. Bu durum, menadionun yapısındaki 2. pozisyonundaki metil grubunun kinon halkasının indirgenebilirliğini azaltmasıyla ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla, menadion güçlü bir COX inhibitörü olarak değerlendirilmemiştir (Landa ve diğerleri, 2012).

Bu çalışmalar, menadionun farklı modellerde NF-κB sinyal yolunu inhibe ederek etkili bir anti-inflamatuvar ajan gibi davrandığını ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bu etkinin protein gama-karboksilasyonu değil, muhtemelen ROS üretimi ve NADPH regülasyonu gibi alternatif redoks temelli mekanizmalarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnflamatuvar hastalıkların birçoğu K vitamini eksikliği ile ilişkilendirilmiştir. K vitamininin antiinflamatuvar mekanizmaları NF-κB inhibisyonunda rol alması ile açıklanmaktadır. K

vitamini türevleri NF-kB' nin aktivasyonuna müdahale etme yetenekleri bakımından önemli bir araştırma konusudur. Aynı zamanda K vitamini mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yolunu baskılamaktadır. K vitamini aynı zamanda NF-kB kontrolü altında olan IL-6 salınımını azaltarak antiinflamatuvar etkilerini sergilediği bildirilmiştir (Hodges ve diğerleri, 2017). K vitamininin antiinflamatuvar etkilerinin pıhtılaşma problemlerinin giderilmesinin ötesinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Hodges ve diğerleri, 2017). Tüm bu veriler, vitamin K3'nin yalnızca pıhtılaşma süreçlerinde değil, inflamasyonun düzenlenmesinde de önemli bir biyolojik rol üstlenebileceğini göstermektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Kararı

Bu deneysel çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (ADÜ-HADYEK) **09/04/2025** tarihli **64583101/2025/064** sayılı kararı ile onaylandı.

3.2. Araştırma Projesinin Desteklenmesi

Bu çalışma, Aydın Aydın Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından TPF-24025 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

Analizler sırasında Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Biyokimya Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan cihazlar kullanıldı.

1. Santrifüj (Hettich Zentrifügen Mikro 200R UK, San Bio Medikal)
2. Santrifüj (Hettich Zentrifügen Rotina 420)
3. Vorteks (Labnet International Inc. Edison NJ, USA)
4. Hassas terazi (Sartorius AG BP 610, Germany)
5. Derin dondurucu (-80 0C) (Sanyo MDF U5186S, Japan)
6. Elisa okuyucu (Diagnostic Automation, Inc. DAR800)
7. İnkübasyon cihazı (Microtec. Type Ak120, Infors Ag Switzerland)

8. Homojenizasyon cihazı (Ultra-Turrax T8 IKA-Werke Sigma-Aldrich)
9. Olympus BX20 Mikroskop
10. Etüv (Nüve, EN055)
11. Mikrotom (Leica RM 2135)

3.4. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

1. TNBS (Sigma P2297)
2. Menadion Sodium Bisülfid (Vitamin K3) (MedChem HY B1897A)
3. Ksilazin (Rompun %2 Bayer Almanya)
4. Ketamin (Keta-Control Mefar Türkiye)
5. Formaldehit (%37 extrapure UN 2209 Tekkim Türkiye)
6. Steril distile su (Multiplus Türkiye)
7. Ethanol (BP, pH,Eur, %96 USA)
8. PBS tampon solution (Clear Band)
9. Rat TNF-alfa Elisa Kit (Sunred Katalog No: 201-11-0765)
10. Rat IL-1 Beta Elisa Kit (Sunred Kat No: 201-11-0120)
11. Rat IL-6 Elisa Kit (Sunred Katalog No: 201-11-0136)
12. Rat PGE₂ Elisa Kit (Sunred Katalog No: 201-11-0505)
13. Rat MPO Elisa kit (Sunred Katalog No: 201-11-0575)
14. Rat MDA Elisa kit (Jiangsu, Chine A003-1)
15. Rat GSH-Px Elisa kit (Jiangsu, Chine A005-1-2)
16. Rat SOD Elisa Kit (Jiangsu, Chine A001-1-2)
17. Rat TAS Elisa Kit (Rel Assay)
18. Rat TOS Elisa Kit (Rel Assay)

3.5. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen, %40-60 bağıl nem oranında, 22 ± 1 derece optimal sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde tutulan ortama alışmaları için tutulan, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 40 adet wistar albino türü erkek sıçan kullanıldı (Resim 1). Bu tür deneklerin temin edilmesinin sebebi, uygulanan oluşturulmak istenen modelde gözlemleyebileceğimiz yeterli ağırlık ve büyüklüğe sahip olmalarıdır (Antoniou ve diğerleri. 2016). Hayvanların beslenmesinde standart sıçan yemi ve musluk suyu kullanıldı ve son 24 saatlik açlık süresine kadar su ve yeme serbest erişim sağlandı (Brenna ve diğerleri. 2013). Hayvanlar şeffaf polikarbonat malzemeden üretilmiş ve üstlükleri paslanmaz çelikten olan kafeslerde barındırıldı. Deneyin ilk gününde ve son gün ağırlıkları tartıldı. Deneysel çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirildi. Toplam 40 adet sıçan, eşit sayıda hayvan içeren 5 gruba ayrıldı (Arunachalam ve diğerleri 2021) (Resim1). Bu çalışmada her grupta 8 sıçan kullanılmıştır. Örneklem büyüklüğü, TNBS ile indüklenen kolit modeline benzer şekilde tasarlanmış önceki deneysel çalışmalarda grup başına 8 hayvanın yeterli bulunduğu çalışmalar örnek alınarak belirlenmiştir (Dupont-Lucas ve diğerleri., 2021; Zhang ve diğerleri, 2014; Arunachalam ve diğerleri 2021).

3.6. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması:

GRUP I Sham grubu (n:8): 0. gün intrarektal Salin, 3. gün sakrifikasyon.

GRUP II Kolit grubu (TNBS) (n:8): 0. gün intrarektal TNBS (%37' lik etanol çözeltisi içinde 25 mg), 3. gün sakrifikasyon.

GRUP III (MSB 10) (n:8): 0. gün intrarektal TNBS (%37' lik etanol çözeltisi içinde 25 mg), 1 saat sonra tek doz i.p. MSB (10 mg/kg), 3. gün sakrifikasyon.

GRUP IV (MSB 4) (n:8): 0. gün intrarektal TNBS (%37' lik etanol çözeltisi içinde 25 mg), 1 saat sonra tek doz i.p. MSB (4 mg/kg), 3.gün sakrifikasyon.

GRUP V (MSB 4X3) (n:8): 0. gün rektal TNBS (%37' lik etanol çözeltisi içinde 25 mg), 1 saat sonra ve 2. ve 3. gün i.p MSB (4 mg /kg), 3. gün sakrifikasyon.



Resim 1. Kafeslerde barındırılan ve gruplandırılmış deney hayvanları

3.7. Kolit İndüksiyonu

TNBS uygulamasından önce hayvanlar 24 saatlik açlık altında tutulduktan sonra bağırsak içerikleri temizlendi. Bu işlemin amacı bağırsak yüzeyinin TNBS' ye homojen bir şekilde maruz kalmasını sağlamaktır. Hayvanlarda defekasyon refleksini uyarmak için baş aşağı pozisyonda 10 dk boyunca kuyruklarından tutulan hayvanlar, arka ayakları üzerinde 5 tekrarlı olarak (90 sn işlem- 30 saniye dinlenme şeklinde) zıplattırılmak suretiyle kolon boşaltma işlemi uygulandı (Şirinyıldız F. 2020) (Resim 2A.). Daha sonra sıçanlar ile TNBS (Resim 4.) ile koliti indüklemek için 50 mg/kg Ketamin ile 5 mg/kg Ksilazin dozlarında anesteziyle (Resim 2B.) tamamen hareketsizleştirildikten sonra TNBS (Resim 2C.), hayvan başına 25 mg olarak %37' lik etanolde çözdürülerek 0,8 ml hacimde anal eşikten intrakolonik 8 cm içeriye ulaşabilen poliüretan bir kateter ile uygulandı (Dost ve diğerleri, 2009) (Resim 4). Sonrasında hayvanlar kimyasalın dışarı çıkmasını önlemek ve homojen dağılmasını sağlamak için bir dk boyunca kuyruklarından kaldırılarak baş aşağı tutuldu ve

trandelenburg pozisyonunda bekletildi (Antoniou ve diğerkleri 2016). Uygulama sonrasında hayvanlar gözlemlendi (Resim5).

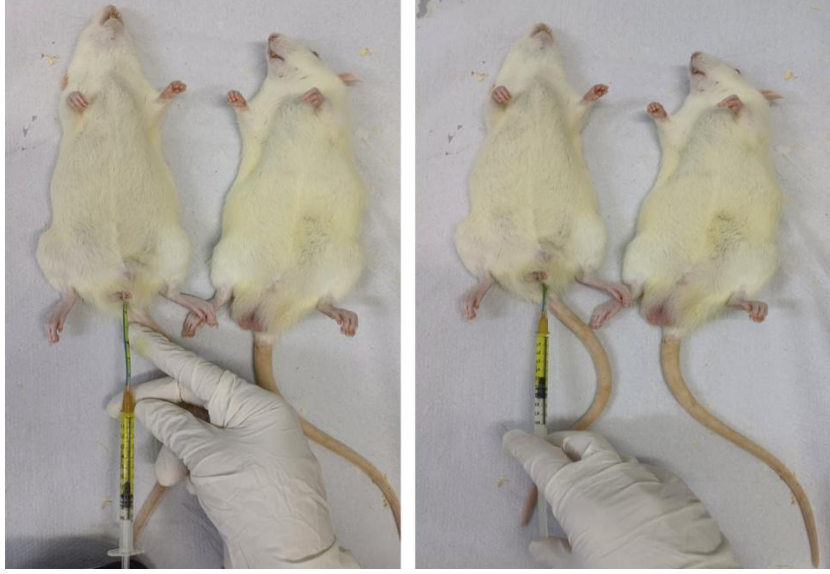


Resim 2. TNBS uygulaması için hazırlık işlemleri

- A: TNBS uygulaması öncesi bağırsak boşaltma işlemi,
B: TNBS uygulaması öncesi intraperitoneal anestezi uygulaması,
C: TNBS uygulaması öncesi anestezi uygulanmış sıçanlar.



Resim 3. TNBS (2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit)



Resim 4. İntrarektal TNBS uygulaması



Resim 5. TNBS uygulaması sonrası kolit oluşturulmuş sıçanlar

3.8. Tedavi Protokolü

Menadionun suda çözünen formu olan menadion sodyum bisülfid, ticari olarak toz halinde temin edildi (Resim 6) ve 1ml saf suda 10 mg olarak çözdürüldü ve TNBS uygulamasından sonraki 1. saatte i.p. yoldan III., IV. ve V. Gruptaki hayvanlara, hayvan başına 10 mg/kg (1ml/kg), 4 mg/kg (0,4ml/kg) ve 3 gün boyunca aynı saatte 4 mg/kg

(0,4ml/kg) olmak üzere belirtilen hacimlerde verildi (Resim 7). Sakrifikasyon gününden 1 gün önce hayvanların yemleri alınarak aç bırakıldı aynı zamanda suya erişim ise ad libitum olarak sağlandı.



Resim 6. Menadion Sodyum Bisülfid



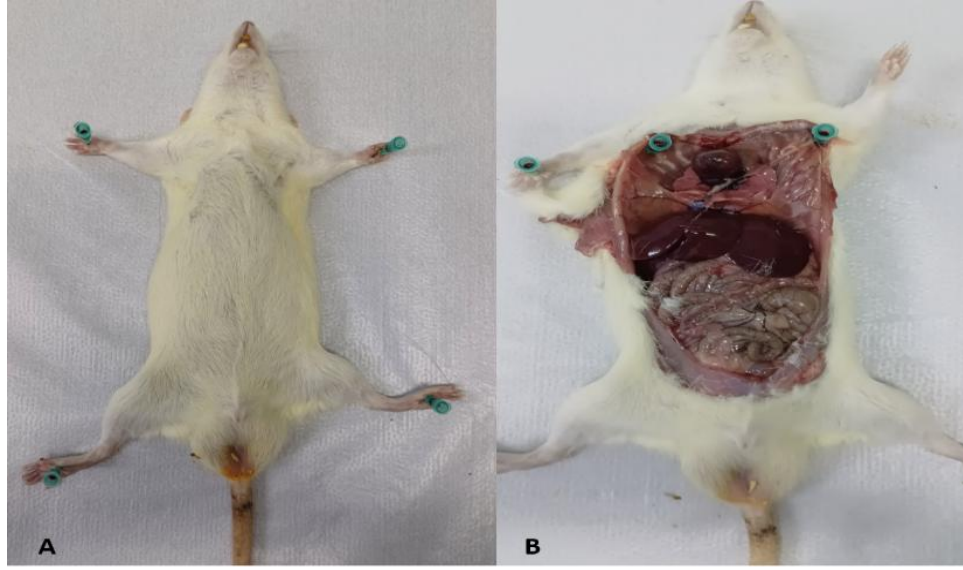
Resim 7. İntraperitoneal Menadion Sodyum Bisülfid (Vitamin K3) uygulaması

3.9. Sakrifikasyon ve Örneklerin Alınması

Deney sonunda hayvanlar sakrifikasyon için intraperitoneal 75 mg/kg Ketamin ile 8 mg/kg Ksilazin şeklinde anesteziye tabi tutularak batin insüzyonu ile birlikte organları açığa çıkarıldı (Resim 9.) ve doku bulgularını destekleyeceği düşünüldüğünden kardiyak ponksiyon ile kan örnekleri alındı (Resim10). Distal kolonun yaklaşık 10 cm'lik kısmı çıkarılarak longitudinal bir kesi ile açıldı, içeriğinden arındırılarak çift kaplarda aktararak serum fizyolojik temizlendi ve her biri makroskopik incelemeye tabi tutulmak üzere fotoğraflandı. Bu segmentin longitudinal olarak ayrılan bir yarısı kurutularak biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -80 derecede, diğer yarısı ise histolojik çalışmalarda kullanılmak üzere %10'luk formalin solüsyonunda saklandı. Kanın 3000rpm' de 10 dk santrifüjü ile elde edilen kan serumları etiketlendirilmiş ependorflara aktararak -80 derecede saklandı.



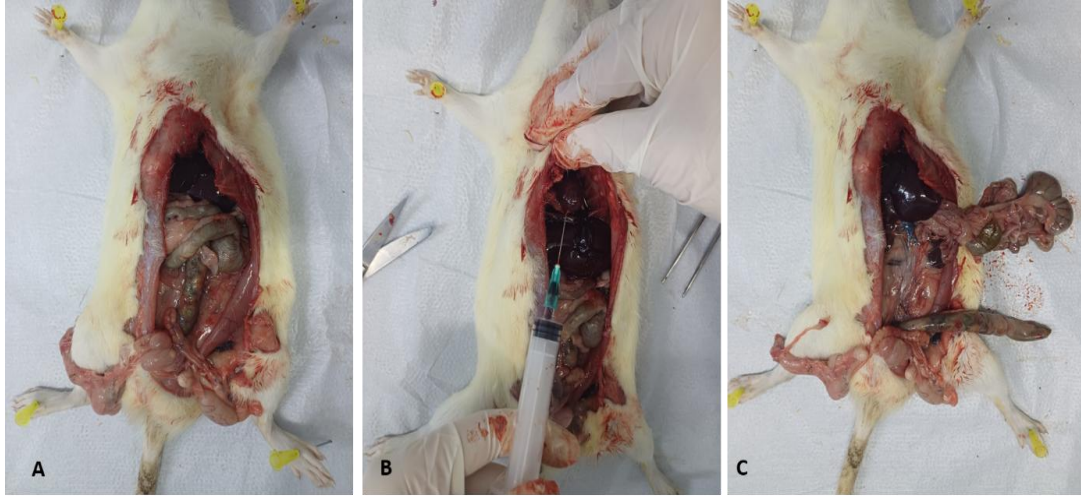
Resim 8. Operasyon öncesinde gerekli malzemelerin hazırlanması



Resim 9. Operasyon sırasında sıçanların görünümü.

A: Anestezi altında operasyona hazır sıçan,

B: Operasyon için batını açılmış sıçanda iç organların görünümü.



Resim 10. Doku ve kan örneklerinin alınması sırasında sıçanlar

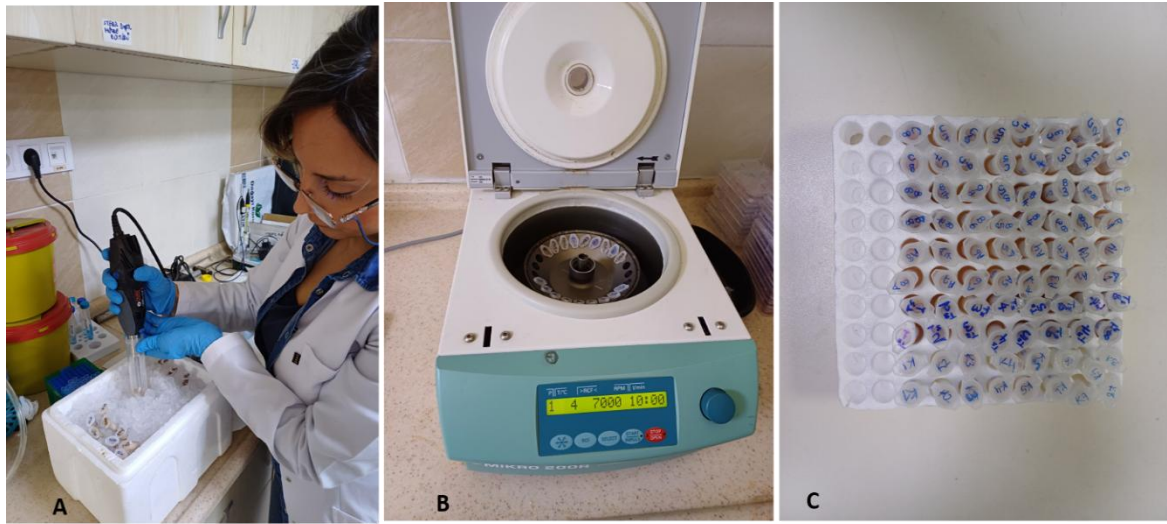
A: Kolit oluşturulmuş sıçanda sakrifikasyon sonrası bağırsak dokusunun görünümü

B: Kolit oluşturulmuş sıçanlarda kardiyak ponksiyon ile kan alınması

C: Kolit oluşturulmuş sıçanlarda Bağırsak dokusunun çıkarılması

3.10. Dokuların Homojenizasyonu:

Tüm hayvanlardan alınan bağırsak dokuları biyokimyasal analiz öncesinde, +4°C’de çözülmüş ve kuru ağırlıkları hassas terazi ile tartılmıştır. Her bir doku örneği belirli hacimlerde 1:10 oranında fosfat tamponu çözeltisinden eklendikten sonra buz üzerinde homojenizatör ile tüplerin içerisinde homojenize edildi. Dokuların homojenizasyonu ile elde edilen sıvı 4000 rpm’de 10 dakika +4°C’de santrifüjlenerek elde edilen süpernatantlar ve kan örneklerinin santrifüjü ile elde edilen serum örneklerini biyokimyasal analizlere tabi tutulmak üzere hazırlandı (Resim 11.)



Resim 11. Biyokimya analizlerine hazırlık sırasında yapılan işlemler

A: Dokuların buz üzerinde homojenizasyonu

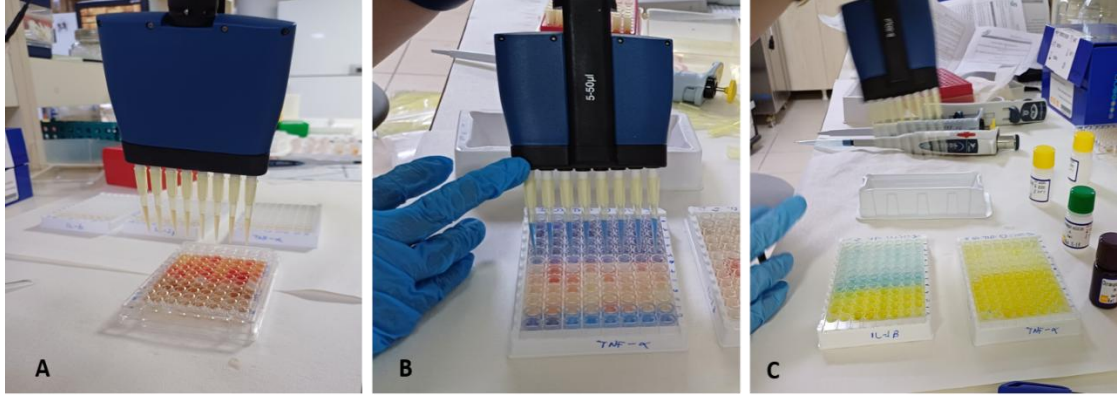
B: Homojenize edilen dokuların mikrosantrifüj aletine yerleştirilmesi

C: Mikrosantrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar ve serum örnekleri

3.11. Biyokimyasal Analizler

Doku örneklerinden elde edilen süpernatantlarda ve elde edilen kan serumlarında; Tümör Nekroz Faktör-alfa (TNF- α), İnterlökin-1 (IL-1 β), İnterlökin-6 (IL-6), ProstaglandinE2 (PGE₂), Miyeloperoksidaz (MPO) gibi inflamatuvar belirteçler ve doku

örneklerinden alınan süpernatantlarda ise Malondialdehit (MDA), DNA hasarı göstergesi olan 8-hidroksi-2' -deoksiguanozin (8-OHdG), Total oksidan kapasite (TOS), Total antioksidan kapasite (TAS), glutatyon peroksidaz (GSH-px), süperoksitdismutaz (SOD) gibi oksidatif ve antioksidatif parametreler, biyokimya laboratuvarında ticari olarak temin edilen elisa kitler ile analiz edildi (Resim12.).



Resim 12. Elisa testleri sırasında yapılan işlemler

- A: Kuyucuklara doku ve serum örneklerinin örneklerinin eklenmesi
- B: Kuyucuklara kromajen çözeltisi eklenmesi
- C: Kuyucuklara durdurma solüsyonu eklenmesi



Resim 13. Elisa testlerinde kullanılan mikroploka okuyucusu

3.11.1. TNF- α Düzeylerinin Ölçümü

TNF- α ölçümü Enzim Bağlı İmmunosorbent Analizi (ELISA) Yöntemi ile yapılmıştır. TNF- α seviyelerinin belirlenmesi için SunRed Rat TNF- α ELISA kiti (Katalog No: 201-11-0765) kullanılmıştır. Çalışmada, kit protokolüne uygun olarak çift antikor sandviç ELISA yöntemi uygulanmıştır. -20°C'de saklanan süpernatantlar ve serum örnekleri analiz öncesi çözündürülerek oda sıcaklığına getirilmiştir. Üretici firmanın talimatlarına göre 1280 ng/L başlangıç standardından seri dilüsyonlarla hazırlanmıştır. Mikrotiter plaka, kit ile sağlanan monoklonal antikor kaplı kuyucukları içermektedir. Her bir kuyucuğa 40 μ l numune, 10 μ l biotin işaretli TNF- α antikor ve 50 μ l Streptavidin-HRP çözeltisi eklenmiştir. Plaka, 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Beş kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve ardından her bir kuyucuğa 50 μ l Kromojen Çözeltisi A ve 50 μ l Kromojen Çözeltisi B eklenmiştir. Plaka, 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon, her kuyucuğa 50 μ l Durdurma Çözeltisi eklenerek sonlandırılmış ve absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda mikrotitre plaka okuyucusu ile ölçülmüştür. Örneklerin TNF- α konsantrasyonu, standart eğri doğrusal regresyon denklemi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar ng/L olarak sunulmuştur (Attallah ve diğerleri, 2022)

3.11.2. IL-1 β Düzeylerinin Ölçümü

İnterlökin-1 β (IL-1 β) seviyelerinin ölçümü için Sunred marka ELISA kiti (Katalog No: 201-11-0120) kullanılmıştır. Kit, çift antikor sandviç enzim bağlantılı immünosorban test (ELISA) prensibine dayanarak IL-1 β konsantrasyonunu ölçmektedir. Homojenizasyon ve santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar ve kan serumları alındı. Kit içinde verilen 9600 pg/L standart, ardışık seyreltmelerle 300, 600, 1200, 2400 ve 4800 pg/L konsantrasyonlarında hazırlandı. Mikroplakalara standartlar ve örneklerden 50 μ L eklendi. 37°C'de 60 dakika inkübasyon sonrası, biotinle işaretli antikor ve streptavidin-HRP eklenerek kompleks oluşumu sağlandı. Plakalar, PBS-T yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Kromojen A ve B eklenerek 10 dakika 37°C'de inkübe edildi. Stop solüsyonu eklenerek okuma öncesi reaksiyon durduruldu. 450 nm dalga boyunda optik dansite (OD) değerleri ELISA okuyucuda ölçüldü. Tüm işlemler steril koşullarda ve kit protokolüne uygun

gerçekleştirildi. Bu yöntem, IL-1 β 'nın kantitatif analizi için yüksek spesifite ve tekrarlanabilirlik sağlamaktadır. Standart eğri kullanılarak örneklerdeki IL-1 β konsantrasyonları hesaplanmış ve sonuçlar pg/L olarak sunulmuştur (Peng ve diğerleri, 2013).

3.11.3. IL-6 Düzeylerinin Ölçümü

IL-6 seviyelerinin belirlenmesi için SunRed Rat IL-6 ELISA kiti (Katalog No: 201-11-0136) kullanılmıştır. Çalışmada, kit protokolüne uygun olarak çift antikor sandviç ELISA yöntemi uygulanmıştır. -20°C'de saklanan serum örnekleri ve süpernatantlar analiz öncesi çözdürülerek oda sıcaklığına getirilmiştir. Standart çözeltiler, üretici firmanın talimatlarına göre 1280 ng/L başlangıç standardından seri dilüsyonlarla hazırlanmıştır. Mikrotiter plaka, kit ile sağlanan monoklonal antikor kaplı kuyucukları içermektedir. Her bir kuyucuğa 40 μ l numune, 10 μ l biotin işaretli IL-6 antikor ve 50 μ l Streptavidin-HRP çözeltisi eklenmiştir. Plaka, 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Beş kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve ardından her bir kuyucuğa 50 μ l Kromojen Çözeltisi A ve 50 μ l Kromojen Çözeltisi B eklenmiştir. Plaka, 37°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon, her kuyucuğa 50 μ l Durdurma Çözeltisi eklenerek sonlandırılmış ve absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda mikrotitre plaka okuyucusu ile ölçülmüştür. Örneklerin IL-6 konsantrasyonu, standart eğri doğrusal regresyon denklemi kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar kit protokolüne göre ng/mL cinsinden bulunmuş olsa da grafiklerde görsel ifadenin anlaşılabilirliği açısından gösterilmesi açısından pg/mL olarak sunulmuştur (Elekhawey ve diğerleri, 2025).

3.11.4. PGE₂ Düzeylerinin Ölçümü

PGE₂ düzeyleri, SunRedBio (Shanghai, Çin) tarafından üretilen Rat PGE₂ ELISA kiti (Katalog No: 201-11-0505) kullanılarak çift antikor sandviç yöntemi esasına dayalı enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) ile belirlenmiştir. Bu yöntem, örnekteki PGE₂ moleküllerinin, daha önceden anti-PGE₂ monoklonal antikorla kaplanmış mikrotitre

kuyucuklarına bağlanması ve ardından biotin ile işaretli ikinci antikor ve streptavidin-HRP enzimiyle kompleks oluşturması esasına dayanır. -20°C’de saklanan serum örnekleri ve süpernatantlar analiz öncesi çözündürülerek oda sıcaklığına getirilmiştir. Örnekler hazırlandıktan sonra, her kuyucuğa 40 µL numune, 10 µL biotin-etiketli PGE₂ antikor ve 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi eklenmiştir. Plaka, 37°C’de 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından plakalar 5 kez yıkandıktan sonra her kuyucuğa sırasıyla 50 µL substrat çözeltisi A ve 50 µL substrat çözeltisi B eklenmiş, karışım karanlıkta 10 dakika 37°C’de bekletilmiştir. Reaksiyon 50 µL durdurucu solüsyon (stop solution) eklenerek sonlandırılmış ve optik yoğunluk (OD) değerleri 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Analizlerde, kit ile birlikte verilen standart çözeltiler kullanılarak bir standart eğri oluşturulmuştur. Numunelere ait konsantrasyonlar, elde edilen absorbans değerlerinin standart eğriye uygulanmasıyla hesaplanmış ve sonuçlar ng/mL cinsinden ifade edilmiştir (Attallah ve diğerleri, 2022).

3.11.5. MPO Düzeylerinin Ölçümü

MPO seviyelerinin belirlenmesi için Rat Myeloperoxidase (MPO) ELISA Kit (Katalog No: 201-11-0575) kullanıldı. -20°C’de saklanan serum örnekleri ve süpernatantlar analiz öncesi çözündürülerek oda sıcaklığına getirilmiştir. Öncelikle orijinal standart 64 ng/mL konsantrasyonda seri dilüsyonla 2, 4, 8, 16 ve 32 ng/mL standart çözelti hazırlandı. Kör kuyulara yalnızca kromojen ve durdurma solüsyonu eklendi. Standart kuyulara 50 µL standart + 50 µL Streptavidin-HRP eklendi. Örnek kuyulara; 40 µL örnek + 10 µL Biotin-MPO antikor + 50 µL Streptavidin-HRP eklendi. 60 dakika, 37°C’ de inkübe edildi. Yıkama, 30× yıkama solüsyonu distile su ile seyreltilerek yapıldı. Renk Geliştirme için 50 µL Kromojen A + 50 µL Kromojen B eklendi, 10 dakika 37°C’de inkübe edildi. 50 µL durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Optik Dansite (OD) Ölçümü: Mikroplate okuyucuda 450 nm’de okuma yapıldı. Standart eğri, OD değerlerine karşılık konsantrasyonlar kullanılarak oluşturuldu. Örneklerin MPO konsantrasyonları, regresyon denklemi kullanılarak hesaplandı ve ng/mL olarak sunuldu (Eğin ve diğerleri, 2018).

3.11.6. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü

MDA düzeyleri, Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute (Jiangsu, Çin) tarafından üretilen A003-1 numaralı Malondialdehit Tayin Kiti kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntem, MDA'nın özel bir kimyasal madde olan tiyobarbitürik asit (TBA) ile yüksek sıcaklıkta reaksiyona girerek renkli bir madde oluşturması esasına dayanır. Bu renkli maddenin yoğunluğu, cihazla ölçülerek örnekteki MDA miktarı belirlenir. Analiz öncesinde, doku örneklerinden hazırlanan homojenatlar santrifüj edilerek sıvı kısım (süpernatant) ayrılmıştır. Ölçüm için bu sıvıya kitin içeriğinde bulunan ölçüm reaktifleri eklenmiş ve karışım sıcak su banyosunda yaklaşık 95 °C'de 40 dakika bekletilmiştir. Daha sonra örnekler soğutulmuş, tekrar santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı kısım alınarak absorbans ölçümü yapılmıştır. Absorbans değerleri, kitin sağladığı standartlara göre değerlendirilmiş ve MDA düzeyleri hesaplanmıştır. Sonuçlar üretici firmanın talimatına göre değerlendirilmiş olup, gerektiğinde nmol/mL olarak sunulmuştur (Hu ve diğerleri, 2021).

3.11.7. 8-OHdG Düzeylerinin Ölçümü

Kolon doku homojenatlarında DNA oksidatif hasar göstergesi olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri, BT LAB (Cat. No: E0031Ra) tarafından üretilen ticari ELISA kiti kullanılarak ölçülmüştür. Bu kit, sıçan örnekleri için özel olarak geliştirilmiş çift antikor sandviç ELISA prensibine dayalı olarak çalışmaktadır. Analiz öncesinde doku örnekleri, PBS (pH 7.4) ile homojenize edilmiş, ardından 2000–3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Hazırlanan örneklerden her kuyucuğa 40 µL numune, ardından 10 µL biotin ile işaretli 8-OHdG antikoru ve 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi eklenmiştir. Plaka, 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası plakalar 5 kez yıkanmış, her kuyucuğa sırasıyla 50 µL substrat çözeltisi A ve 50 µL substrat çözeltisi B eklenmiştir. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika inkübasyonun ardından reaksiyon 50 µL durdurucu solüsyonla sonlandırılmıştır. Renk değişimi sonrası absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen optik yoğunluk (OD) değerleri, kitte sağlanan standart eğriye uygulanarak örneklerin 8-OHdG düzeyleri ng/mL cinsinden sunulmuştur (Erdem, Aktaş ve Ögüt, 2024).

3.11.8. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute (Jiangsu, China) tarafından üretilen ticari kit (Ürün kodu: A001-1-2) kullanılarak kolorimetrik yöntemle belirlendi. Bu yöntem, ksantin oksidaz enzimi ile süperoksit anyonlarının üretildiği ve bu anyonların hidroksilamin ile reaksiyona girerek nitrit oluşturduğu prensibe dayanır. Oluşan nitritler, kromojenik ajanla reaksiyona girerek 550 nm’de ölçülebilen amaranth (kırmızı-mor) renkte bir kompleks oluşturur. Numunede bulunan SOD enzimi bu reaksiyonu inhibe eder; dolayısıyla absorbans değeri, SOD aktivitesiyle ters orantılı olarak azalır. Analiz öncesinde doku homojenatları hazırlanmıştır. Ölçümde kullanılacak numune hacmi, ön denemeler ile inhibisyon oranı %45–50 arasında olacak şekilde optimize edilmiştir. Reaksiyon karışımı aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır: tampon solüsyonu (1,0 mL), substrat çözeltisi (0,1 mL), stroma çözeltisi (0,1 mL), enzim çözeltisi (0,1 mL) ve belirlenen hacimde numune eklenerek hazırlanmıştır. Karışım vortexlenerek 37 °C’de 40 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 2 mL kromojen ajan ilave edilmiş ve karışım oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Absorbans değerleri spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar U/mL olarak sunulmuştur (Hu ve diğerleri, 2021).

3.11.9. GSH-Px Aktivitesinin Tayini

GSH-Px aktivitesi tespiti için tüm işlemler Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute (Jiangsu, Çin) tarafından üretilen Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayin Kiti (Ürün kodu: A005-1-2) kullanılarak kolorimetrik yöntemle belirlenmiştir. Bu yöntem, glutasyon peroksidaz enziminin hidrojen peroksidi indirgerken glutasyonu oksitlemesi prensibine dayanır. Bu işlem sırasında NADPH, NADP⁺’a dönüşürken absorbans azalması meydana gelir. Bu değişim, cihazla ölçülerek GSH-Px aktivitesi hesaplanır. Analiz öncesinde, doku örneklerinden hazırlanan homojenatlar santrifüj edilerek sıvı kısım (süpernatant) elde edilmiştir. Ölçüm için bu süpernatantlar, kitin sağladığı reaktiflerle karıştırılarak reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Karışım 37 °C’de uygun süreyle inkübe edilmiştir. Ardından absorbans değerleri belirli aralıklarla (genellikle 0. ve 5. dakikalar) spektrofotometrede

ölçülmüştür. Absorbans değişimi üzerinden GSH-Px aktivitesi hesaplanmış ve sonuçlar, üretici firmanın önerdiği formüle göre değerlendirilmiştir. Sonuçlar U/mL olarak sunulmuştur (Hu ve diğerleri, 2021).

3.11.10. TAS Düzeylerinin Ölçümü

Tüm işlemler, Erel (2004) tarafından tanımlanan yöntem esas alınarak ve ticari kitin protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Erel, O. (2004) tarafından geliştirilen bu yöntem, ABTS⁺ (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonu kullanılarak toplam antioksidan kapasitenin ölçülmesini sağlar. Bu yöntem, antioksidanların ABTS⁺ radikalini nötralize etme kapasitesine dayanır. Yeni nesil, daha kararlı, renkli 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit radikal katyonu (ABTS(*+)) kullanılmıştır. ABTS(*+), konsantrasyonlarına ve antioksidan kapasitelerine göre antioksidanlar tarafından nötralize edilir ve renksizleştirilir. Bu renk değişimi, 660 nm'de absorbanstaki bir değişim olarak ölçülmüştür. Absorbans azalması, antioksidan kapasiteyle doğru orantılıdır. Bu işlem otomatik bir analizöre uygulanmış ve deney Trolox ile kalibre edilerek sonuçlar Trolox eşdeğeri milimol/litre (mmol Trolox Eq/L) cinsinden sunulmuştur (Erel, 2004).

3.11.11. TOS Düzeylerinin Ölçümü

Tüm işlemler, Erel (2005) tarafından tanımlanan yöntem esas alınarak ve ticari kitin (Rel Assay) protokolüne uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Toplam oksidan düzeyi (TOS), Orhan Erel tarafından geliştirilen kolorimetrik yöntemle dayalı olarak, ticari bir kit kullanılarak ölçülmüştür (Rel Assay Diagnostics, Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye). Bu yöntem, örnekteki tüm oksidan bileşiklerin (peroksitler, serbest radikaller vb.) varlığında ferroz iyonlarının (Fe²⁺), ferrik iyonlara (Fe³⁺) oksitlenmesi esasına dayanır. Oluşan Fe³⁺ iyonları, kromojen ajan olan ksilenol oranj ile renkli bir kompleks oluşturur. Bu kompleksin renk yoğunluğu, spektrofotometre ile 530–560 nm dalga boyunda ölçülür. Elde edilen değerler, üretici firmanın sağladığı standart eğri doğrultusunda değerlendirilmiş ve

mikromol hidrojen peroksit eşdeğeri/litre ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) cinsinden ifade edilmiştir (Erel, 2005).

3.11.12. OSI Değerlerinin Hesaplanması

TOS değerleri mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri/litre ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eşd./L}$) cinsinden, TAS düzeyleri ise milimolar Trolox eşdeğeri/litre ($\text{mmol Trolox Eşd./L}$) cinsinden ifade edildi. TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edildi ve aşağıdaki formülle hesaplandı: $\text{OSI} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eşd./L}) / \text{TAS } (\mu\text{mol Trolox Eşd./L}) \times 100$ (Paulis ve diğerleri. 2024).

3.12. Makroskopik inceleme

Sakrifikasyon yapıldıktan sonra tüm gruplardan alınan kolon doku örnekleri taze iken, serum fizyolojik çözeltisi ile temizlenip açıldıktan sonra bir yüzey üzerine düz bir şekilde yatırılarak longitudinal kesiyle açıldıktan sonra fotoğraflandı ve uzman patolog tarafından makroskopik değerlendirmeye tabi tutuldu. Makroskopik inceleme için kolon örnekleri Wallace ve diğerleri, (1990) tarafından tarif edilen tekniğe göre, gözlenen hasar seviyeleri skorlanarak yapıldı. Bu teknik ile hiperemi, ülserasyon, kolon duvarı kalınlaşmasının yanı sıra, lezyonların uzunluğu ve sayısı da değerlendirildi.

Buna göre;

0: Normal

1: Lokal hiperemi (ülser yok)

2: Hiperemi veya bağırsak duvarı kalınlaşması olmadan ülserasyon

3: Tek bir bölgede ülserasyon ve inflamasyon

4: İki veya daha fazla ülserasyon ve inflamasyon bölgesi

5: Kolon boyunca 1 cm'den fazla yayılım gösteren hasar

6-10: 2 cm'den uzun hasarlarda her ek cm için skor 1 artırılır.

3.13. Histopatolojik Analizler

Ratlardan alınan kolon dokularının takip, kesit alma ve boyama işlemleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Ratlardan alınan kolon örnekleri dışkı artıklarının serum fizyolojik çözeltisi ile temizlenmesinden sonra, patolojik inceleme için %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içine konuldu. Dokular solüsyon içinde 24-48 saat fikse edildikten sonra kolonlardan örnekler alındı ve kasetlendi. Daha sonra hazırlanan kasetler otomatik doku takip cihazında (LEICA ASP 300 S) 14-16 saat süre ile takip işlemine alındı. Takip işlemi ardından dokular parafinde tespitlendi, elde edilen parafin bloklardan mikrotom (Thermo Shandon HM 430 Sliding Microtome, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) ile 2-3 µm kalınlıkta seri kesitler elde edildi. Bu kesitler ışık mikroskobu incelemesi için pozitif yüklü lamlara alındı. Bir gece 37°C'lik etüvde tutulan seri kesitler Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Tüm örnekler deney gruplarından habersiz bir uzman patolog tarafından ışık mikroskobu (Olympus BX53, Olympus Co., Tokyo, Japan) ile incelendi. Fotomikrograflar, Olympus BX-53 model mikroskop (Olympus Co., Tokyo, Japan) üzerine adapte edilmiş yüksek rezolüsyonlu versiyon 2 video kamera (Olympus DP-22 Microscope digital camera software program, Tokyo, Japan) ile çekildi. Alınan kesitler incelendikten sonra hasar şiddetini gösteren parametrelere göre histopatolojik skorlama yapıldı. Kolon örneklerinden hazırlanmış, Hematoksilen-Eozin ile boyanmış preparatların histopatolojik değerlendirmesi literatürde ortaya konan kriterlere göre değerlendirildi ve kolon hasarının seviyesine göre puanlandırıldı. İltihabi infiltrasyonun derecesi, hemoraji, nekroz, kript apselerinin varlığı, goblet hücrelerinde azalma, mukozal yapı kaybı, ödem, kolon duvarında kalınlaşma ve morfolojik değişiklikleri açısından değerlendirme yapıldı. Her parametre için kullanıldı: yok (0), hafif (1), orta (2) ve yoğun (3) olmak üzere 3 ölçek kullanıldı (González ve diğerleri, 1999; Appleyard ve Wallace, 1995).

3.14. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde "IBM SPSS statistics Version" 26.0 istatistik programı kullanıldı. Kantitatif değişkenlerin normal dağılım gösterip

göstermediğini belirlemek için Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirmede oneway analysis of variance (ANOVA) kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında, Ducnnett's multiple comparisons testi ile gerçekleştirildi. Tüm gruplar TNBS grubuna göre istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Grupların değerleri, ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve p değerleri için 0,05 istatistiksel anlamlılık sınırı kabul edildi.

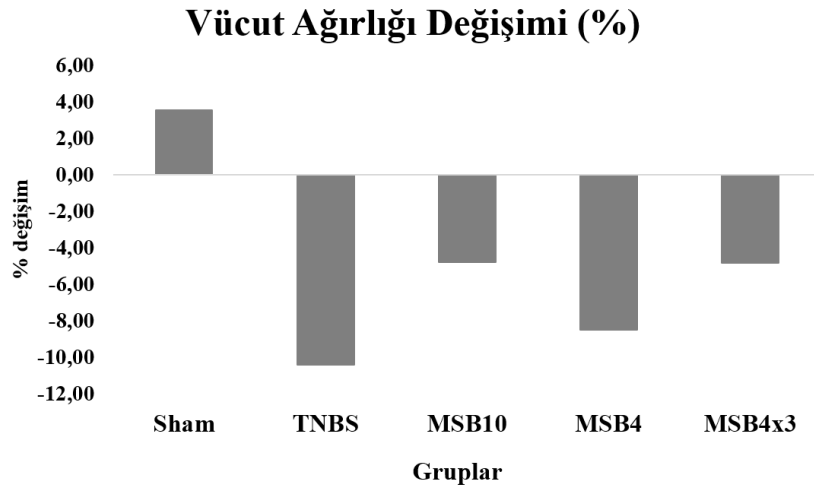
4. BULGULAR

4.1. Ağırlık Değişimleri

Çalışmada, deney süreci boyunca vücut ağırlığı değişimleri her grup için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Sham grubundaki sıçanlarda 3 günlük deney süresi boyunca ağırlık ortalamaları normal sağlıklı sıçanlardan beklenen şekliyle %3,53 artış göstermiştir. TNBS grubundaki sıçanlar ise %10,42'lik vücut ağırlığında azalma göstermişlerdir. MSB10 grubunda tedavi edilen sıçanlarda, belirgin düzeyde vücut ağırlığındaki azalma önlenerek %4,78'e indirilmiştir. MSB4 grubunda tedavi edilen sıçanlar ise ağırlık azalmasının önlenmesinde en az etkili grup olmuştur ve %8,49' luk bir ağırlık azalması göstermişlerdir. MSB4x3 grubunda üç gün boyunca 4 mg/kg verilen grupta ise bu azalma tek doz 10 mg/kg verilen MSB10 grubundaki sıçanlarla benzer bulunmuştur. Bu sonuçlara göre MSB10 ve MSB4x3 gruplarında Sham grubuna en yakın sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre; Tüm grupların ilk gün ve son gün vücut ağırlığı değişimleri Tablo 1. ve Şekil 4'de sunulmuştur.

Tablo 1. Tüm grupların ilk gün ve son gün vücut ağırlığı değişimleri

Gruplar	İlk Ağırlık (g)	Son Ağırlık (g)	Fark (g)	Değişim (%)
Sham	283.25	293.25	10.00	3.53
TNBS	280.75	251.50	-29.25	-10.42
MSB10	285.00	271.38	-13.62	-4.78
MSB4	266.63	244.00	-22.63	-8.49
MSB4x3	275.13	261.88	-13.25	-4.82



Şekil 4. Tüm grupların ilk gün ve son gün ağırlık değişimleri

4.2. Biyokimya Bulguları

Çalışmamızda; TNBS ile gerçekleştirilen deneysel kolit Menadion sodyum bisülfid (MSB) (Vitamin K3) uygulanmasının inflamasyon üzerindeki etkileri biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Biyokimyasal analizlere ait toplu sonuçlar Tablo 2. de sunulmuştur.

Tablo 2. Tüm gruplara ait toplu biyokimya bulguları

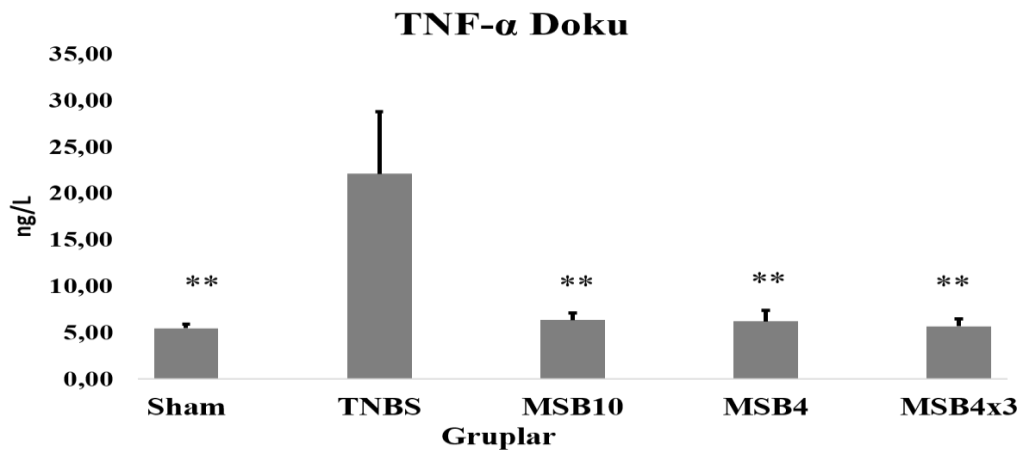
	Sham	TNBS	MSB10	MSB4	MSB4X3
TNF-α Doku (ng/L)	5,47 $\pm$ 0,42	22,07 $\pm$ 6,67	6,35 $\pm$ 0,77	6,19 $\pm$ 1,17	5,65 $\pm$ 0,79
TNF- α Serum (ng/L)	122,15 $\pm$ 8,32	179,52 $\pm$ 11,42	101,25 $\pm$ 11,45	111,64 $\pm$ 6,7	102,18 $\pm$ 3,6
IL-1β Doku (pg/L)	91,23 $\pm$ 4,98	227,16$\pm$38,7	136,2 $\pm$13,75	105,62$\pm$9,02	138,37$\pm$10,1
IL-1 β Serum (pg/L)	452,32 $\pm$ 16	601,08 $\pm$ 38,42	399,03 $\pm$ 59,2	415,97 $\pm$ 55,7	449,33 $\pm$ 36,53
IL-6 Doku (pg/L)	1,55 $\pm$ 0,36	14,55 $\pm$ 4,25	4,8 $\pm$ 1,22	7,61 $\pm$ 1,9	3,09 $\pm$ 0,79
IL-6 Serum (pg/L)	47,83 $\pm$ 1,82	65,84 $\pm$ 4,19	49,49 $\pm$ 1,93	49,46 $\pm$ 4,86	43,79 $\pm$ 1,57
MPO Doku (ng/mL)	0,89 $\pm$ 0,07	1,82 $\pm$ 0,27	1,05 $\pm$ 0,08	1,06 $\pm$ 0,06	0,8 $\pm$ 0,05
MPO Serum (ng/mL)	7,93 $\pm$ 0,24	9,24 $\pm$ 0,51	5,67 $\pm$ 0,28	6,02 $\pm$ 0,41	5,64 $\pm$ 0,22
PGE₂ Doku (ng/mL)	58,83 $\pm$ 2,42	157,02 $\pm$ 18,73	97,03 $\pm$ 7,7	64,75 $\pm$ 3,56	65,05 $\pm$ 7
PGE ₂ Serum (ng/mL)	656,05 $\pm$ 20,48	663,79 $\pm$ 38,67	591,32 $\pm$ 45,02	549,06 $\pm$ 54,51	381,96 $\pm$ 51,43
8OhdG Doku (ng/mL)	0,53 $\pm$ 0,02	1,7 $\pm$ 0,04	1,18 $\pm$ 0,02	1,28 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,03

Tablo 2. Tüm gruplara ait toplu biyokimya bulguları (devamı)

MDA_Doku (nmol/mL)	3,06 ± 0,1	11,94 ± 0,3	8,11 ± 0,08	9,29 ± 0,13	6,55 ± 0,17
SOD Doku (U/mL)	178,68 ± 4,31	70,52 ± 2,48	113,06 ± 1,37	87,6 ± 2,99	136,53 ± 2,23
GSH_Px Doku (U/mL)	702,93 ± 9,38	191,51 ± 5,47	458,05 ± 13,84	243,54 ± 10,91	574,18 ± 20,9
TAS Doku (Trolox equivalent/L)	721,59 ± 19,91	224,73 ± 10,15	347,52 ± 16,15	389,4 ± 8,33	496,28 ± 13,63
TOS Doku (H ₂ O ₂ equivalent/L)	9,63 ± 0,18	18,37 ± 0,5	15,98 ± 0,33	15,22 ± 0,21	12,79 ± 0,31
OSI Doku (μmol H ₂ O ₂ Eşd./L /trolox equivalent/L)	1,34 ± 0,04	8,33 ± 0,53	4,66 ± 0,22	3,92 ± 0,11	2,59 ± 0,1

4.2.1. Doku TNF-alfa Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusundaki TNF- α düzeyleri; Sham grubunda $5,47 \pm 0,42$ ng/L olarak ölçülürken, TNBS grubunda anlamlı bir artışla $22,07 \pm 6,67$ ng/L düzeyine ulaşmıştır (**: $p<0,01$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 ile tedavi edilen gruplarda sırasıyla $6,35 \pm 0,77$ ng/L, $6,19 \pm 1,17$ ng/L ve $5,65 \pm 0,79$ ng/L değerleri elde edilmiş olup, bu grupların hepsinde TNBS grubuna göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir (**: $p<0,01$). MSB tedavileri, TNF- α doku düzeylerini Sham grubuna yakın düzeylere indirmiştir. Gruplar arası doku TNF- α düzeyleri karşılaştırması Şekil 5’ de sunulmuştur.



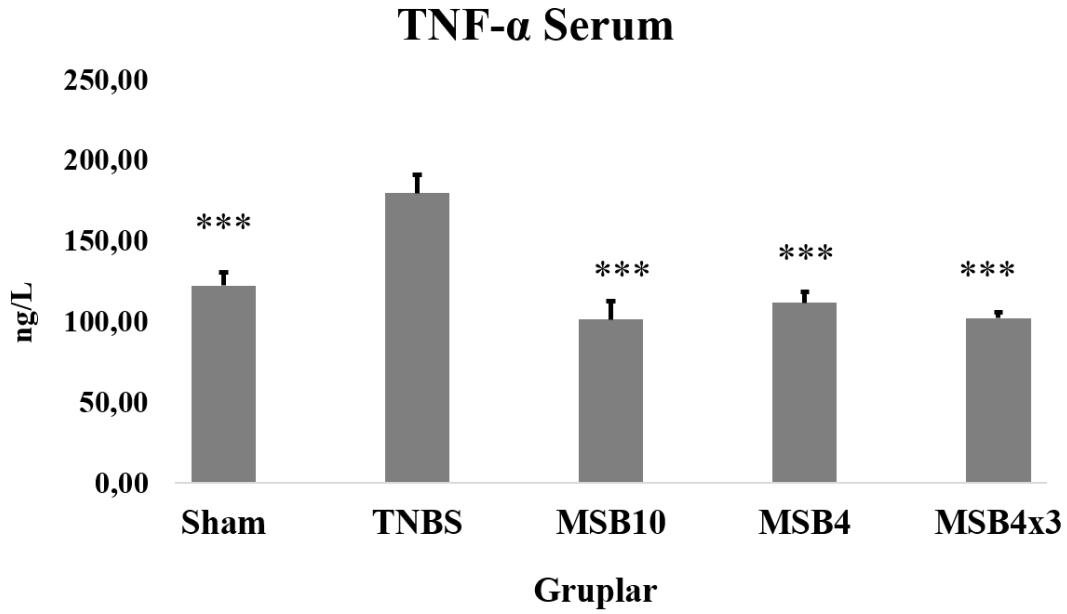
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır

. ***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$

Şekil 5. Grupların TNF- α doku düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.2. Serum TNF- α Düzeyleri Bulguları

Serumdaki TNF- α düzeyleri; Sham grubunda $122.15 \pm 8,32$ ng/L, TNBS grubunda $179.52 \pm 11,42$ ng/L, MSB10 grubunda $101.25 \pm 11,45$ ng/L, MSB4 grubunda $111.64 \pm 6,70$ ng/L, MSB4x3 grubunda $102.18 \pm 3,60$ ng/L olarak bulunmuştur. TNBS grubunda Sham grubuna göre belirgin düzeyde artmıştır (***: $p < 0,001$). MSB'nin üç farklı şekilde uygulandığı üç farklı tedavi grubunda da en yüksek düzeyde anlamlılık ile TNF- α düzeyleri serumda düşürülmüştür (***: $p < 0,001$). Gruplar arası serum TNF- α düzeyleri karşılaştırması Şekil 6'de sunulmuştur.



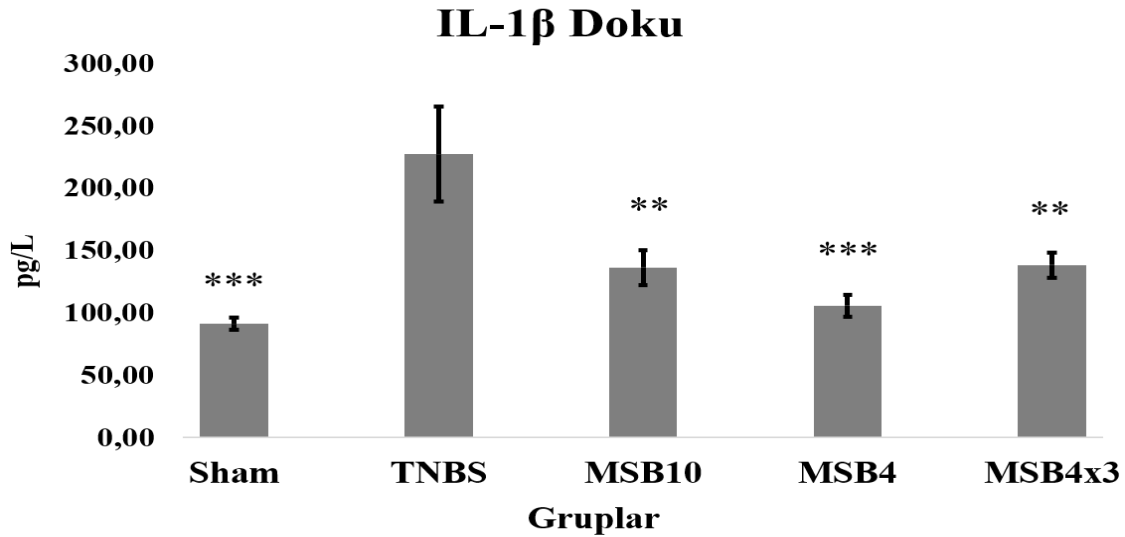
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 6. Grupların TNF- α Serum düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.3. Doku IL-1 β Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusundaki IL-1 β düzeyi TNBS grubunda $227,16 \pm 38,7$ pg/L olarak ölçülerek, Sham grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır (***: $p < 0,001$). MSB10 grubunda bu düzey $136,62 \pm 13,75$ pg/L olup, TNBS grubuna göre anlamlı şekilde azalma göstermiştir (**: $p < 0,01$). MSB4 grubunda IL-1 β düzeyi $105,62 \pm 9,02$ pg/L olarak belirlenmiş ve TNBS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır (***: $p < 0,001$). Benzer şekilde, MSB4x3 grubunda dokuda $138,37 \pm 10,1$ pg/L düzeyinde ölçülen IL-1 β miktarı da TNBS grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır (**: $p < 0,01$). Gruplar arası doku IL-1 β düzeyleri karşılaştırması Şekil 7’de sunulmuştur.



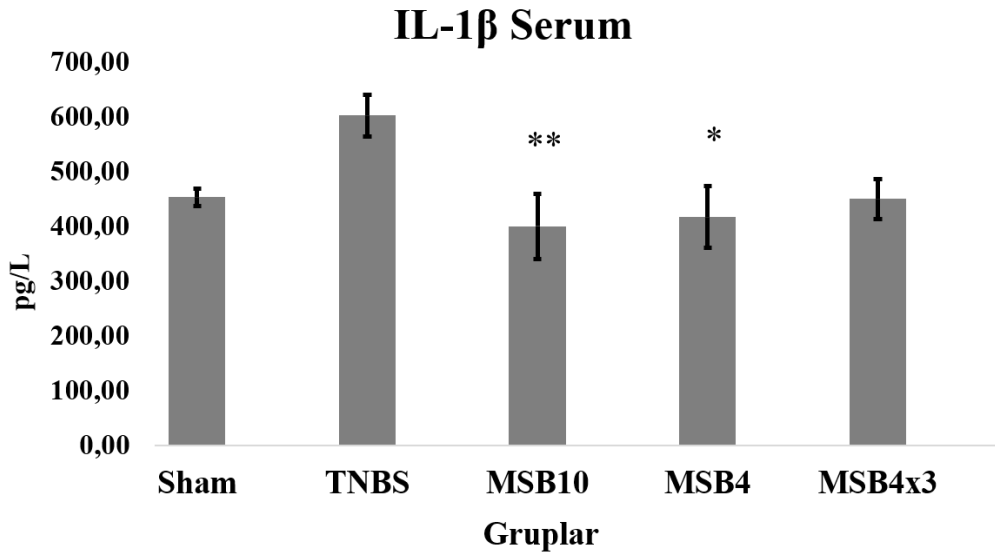
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 7. Grupların IL-1 β doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.4. Serum IL-1 β Düzeyleri Bulguları

IL-1 β serum düzeyleri Sham grubunda $452,32 \pm 16$ pg/L, TNBS grubunda ise $601,08 \pm 38,42$ pg/L olarak ölçülmüştür. TNBS grubunda artış gözlenirse de Sham grubuna kıyasla bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. MSB10 ve MSB4 gruplarında sırasıyla $390,08 \pm 59,2$ pg/L ve $415,97 \pm 55,7$ pg/L düzeyleri ile TNBS grubuna göre (**: $p<0,01$) ve (*: $p<0,05$) olmak üzere anlamlı azalma saptanmıştır. MSB4x3 grubunda ise $449,33 \pm 36,53$ pg/L düzeyi ile anlamlı fark izlenmemiştir. Tüm tedavi gruplarında Sham grubunun altında değerlere inmiştir. Gruplar arası serum IL-1 β düzeyleri karşılaştırması Şekil 8’de sunulmuştur.



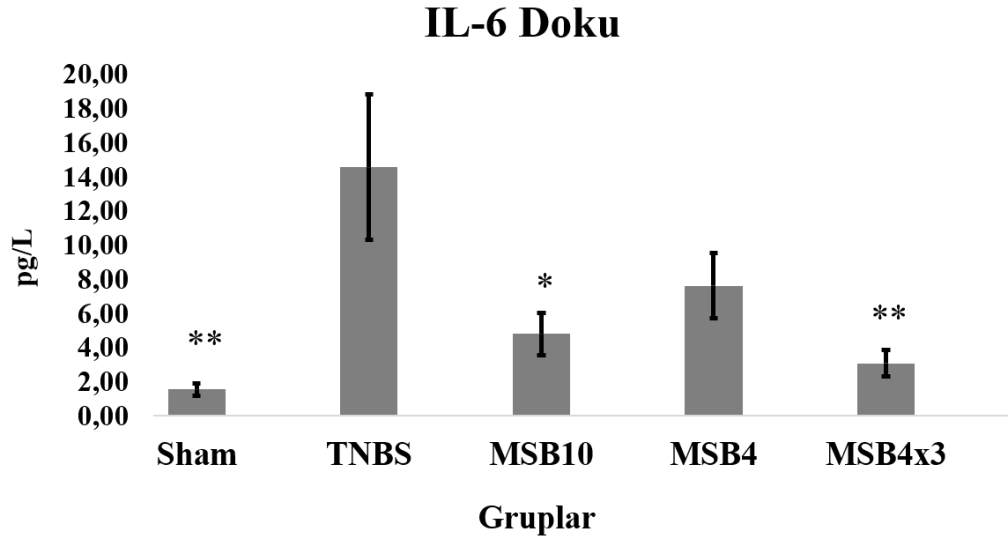
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$

Şekil 8. Grupların IL-1 β serum düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.5. Doku IL-6 Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda IL-6 düzeyleri; Sham grubunda $1,55 \pm 0,36$ pg/L olarak ölçülmüş, TNBS grubunda anlamlı artış göstererek $14,55 \pm 4,25$ pg/L seviyesine ulaşmıştır (**: $p<0,01$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 gruplarında sırasıyla $4,58 \pm 1,22$ pg/L, $7,61 \pm 1,9$ pg/L ve $3,09 \pm 0,79$ pg/L düzeyleri tespit edilmiştir. TNBS grubuna göre MSB10 grubunda (*: $p<0,05$), ve MSB4x3 grubunda (**: $p<0,01$) anlamlı azalma bulunmuştur. MSB4 grubunda ise TNBS grubuna göre anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Gruplar arası doku IL-6 düzeyleri karşılaştırması Şekil 9'de sunulmuştur.



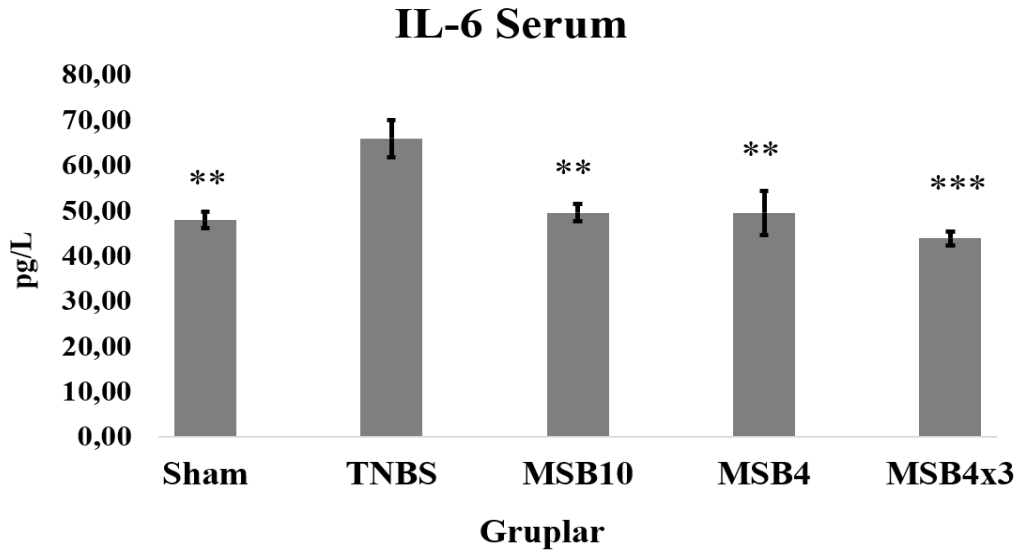
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$

Şekil 9. Grupların IL-6 Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.6. Serum IL-6 Düzeyleri Bulguları

IL-6 serum düzeyleri; Sham grubunda $47,83 \pm 1,82$ pg/L olarak ölçülmüş, TNBS grubunda anlamlı artış göstererek $65,84 \pm 4,19$ pg/L düzeyine ulaşmıştır (*: $p<0,05$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 gruplarında sırasıyla $49,49 \pm 1,93$ pg/L, $49,46 \pm 4,86$ pg/L ve $43,79 \pm 1,57$ pg/L değerleri elde edilmiştir. TNBS grubuna göre anlamlı azalma; MSB10 grubunda (**: $p<0,01$), MSB4 grubunda (**: $p<0,01$) ve MSB4x3 grubunda (***: $p<0,001$) olmak üzere tedavi gruplarının hepsinde anlamlı bulunmuştur. Tüm tedavi gruplarında Sham grubuna yakın olmakla birlikte, MSB4x3 grubunda Sham grubu değerlerinin altına inmiştir. Gruplar arası serum IL-6 düzeyleri karşılaştırması Şekil 10'da sunulmuştur.



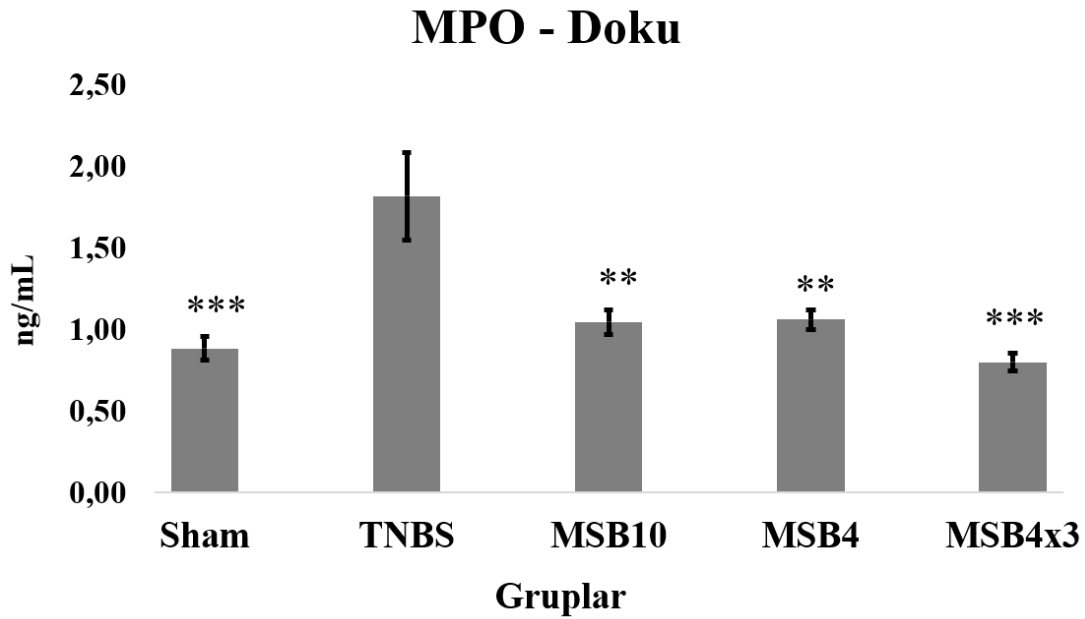
Şekil Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$

Şekil 10. Grupların IL-6 Serum düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.7. Doku MPO Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda MPO düzeyleri Sham grubunda $0,89 \pm 0,07$ ng/mL olarak ölçülmüş, TNBS uygulaması sonrasında bu değer anlamlı şekilde artarak $1,82 \pm 0,27$ ng/mL seviyesine ulaşmıştır (***: $p < 0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 tedavileri sonrasında MPO düzeyleri sırasıyla $1,05 \pm 0,08$ ng/mL, $1,06 \pm 0,06$ ng/mL ve $0,80 \pm 0,05$ ng/mL olarak belirlenmiştir. TNBS grubuna göre bu üç tedavi grubunda da MPO düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır; MSB10 ve MSB4 gruplarında (**: $p < 0,01$), MSB4x3 grubunda ise (***: $p < 0,001$) önemli düzeyde anlamlılık elde edilmiştir. Ayrıca tüm gruplarda kontrol değerlerine yakın olmakla birlikte, MSB4x3 grubunda Sham grubu değerlerinin altına inmiştir. Gruplar arası doku MPO düzeyleri karşılaştırması Şekil 11’da sunulmuştur.



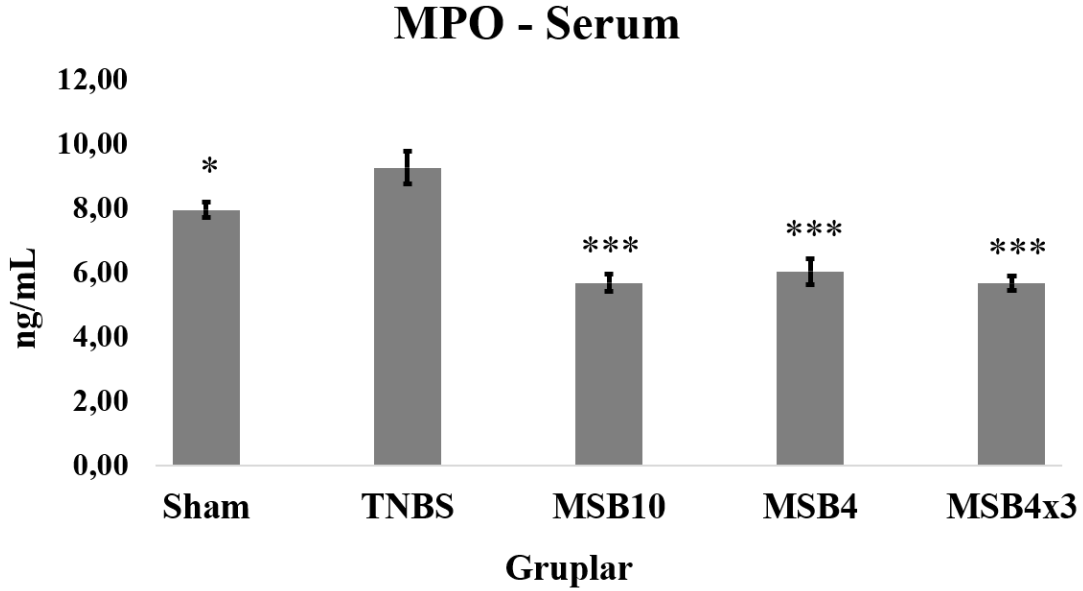
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 11. Grupların MPO Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.8. Serum MPO Düzeyleri Bulguları

MPO serum düzeyleri Sham grubunda $7,93 \pm 0,24$ ng/mL olarak ölçülmüş, TNBS grubunda bu değer anlamlı şekilde artarak $9,24 \pm 0,51$ ng/mL seviyesine yükselmiştir (*: $p < 0,05$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 gruplarında MPO düzeyleri sırasıyla $5,67 \pm 0,28$ ng/mL, $6,02 \pm 0,41$ ng/mL ve $5,64 \pm 0,22$ ng/mL olarak saptanmıştır. Tüm tedavi gruplarında, TNBS grubuna göre ileri düzeyde anlamlı azalma bulunmuştur (***: $p < 0,001$). Ayrıca tüm tedavi gruplarında Sham grubundan daha düşük değerlere inmiştir. Gruplar arası serum MPO düzeyleri karşılaştırması Şekil 12’de sunulmuştur.



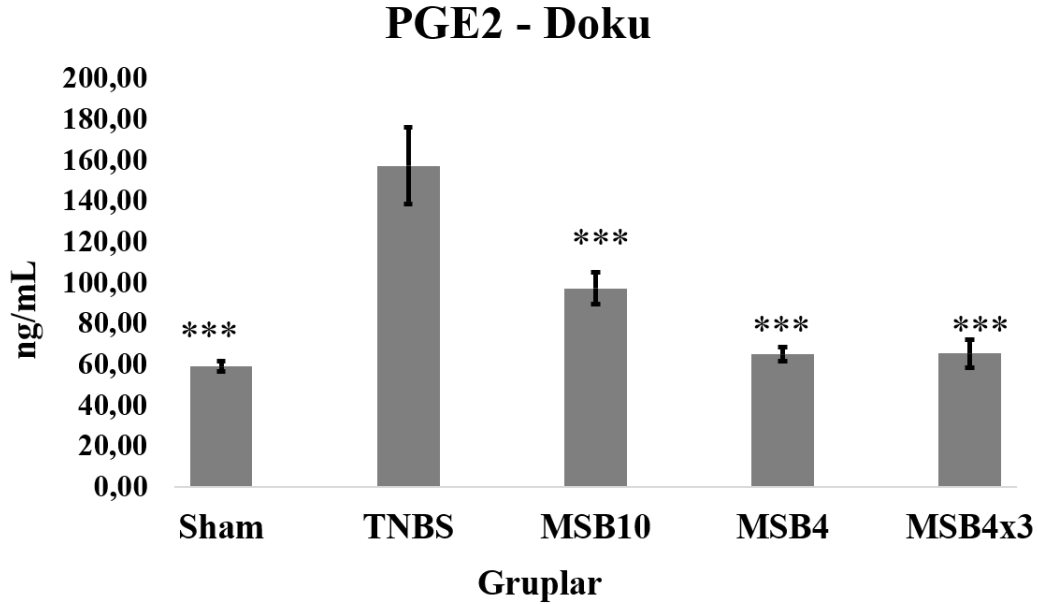
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 12. Grupların MPO Serum düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.9. Doku PGE₂ Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda PGE₂ düzeyleri; Sham grubunda $58,83 \pm 2,42$ ng/mL olarak ölçülmüş, TNBS uygulaması sonrasında bu değer anlamlı bir artış göstererek $157,02 \pm 18,73$ ng/mL'ye ulaşmıştır (***: $p < 0,001$). Tedavi uygulanan MSB10, MSB4 ve MSB4x3 gruplarında sırasıyla $97,03 \pm 7,7$ ng/mL, $64,75 \pm 3,56$ ng/mL ve $65,05 \pm 7$ ng/mL düzeyleri tespit edilmiştir. TNBS grubuna kıyasla bu üç tedavi grubunda da PGE₂ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür (***: $p < 0,001$). Gruplar arası doku PGE₂ düzeyleri karşılaştırması Şekil 13'de sunulmuştur.



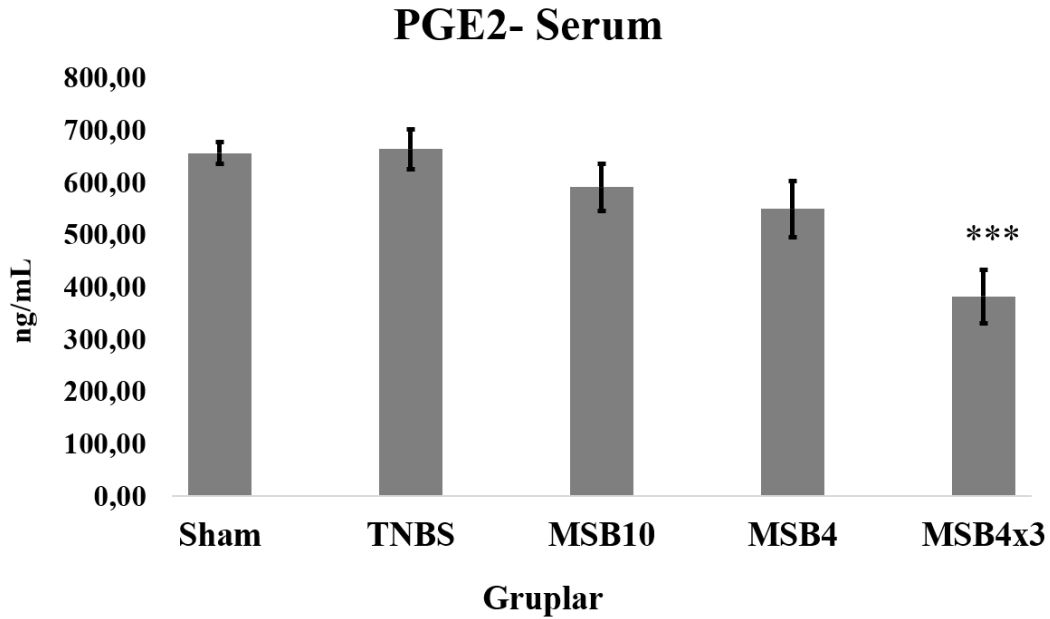
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 13. Grupların PGE₂ Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.10. Serum PGE₂ Düzeyleri Bulguları

PGE₂ serum düzeyleri Sham grubunda $656,05 \pm 20,48$ ng/mL olarak ölçülmüş, TNBS uygulaması sonrasında benzer düzeyde kalarak $663,79 \pm 38,67$ ng/mL seviyesinde bulunmuştur. MSB10 ve MSB4 gruplarında bu değerler sırasıyla $591,32 \pm 45,02$ ng/mL ve $549,06 \pm 54,51$ ng/mL olarak sham grubundan daha düşük değerlere inmiş olsa da bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. MSB4x3 grubunda ise PGE₂ düzeyleri TNBS grubuna göre anlamlı şekilde düşerek $381,96 \pm 51,43$ ng/mL'ye gerilemiştir ($***p<0,001$). Tedavi gruplarının hepsi serum PGE₂ düzeylerinde sham grubunun altında değerler sergilemiştir. Gruplar arası serum PGE₂ düzeyleri karşılaştırması Şekil 14'de sunulmuştur.



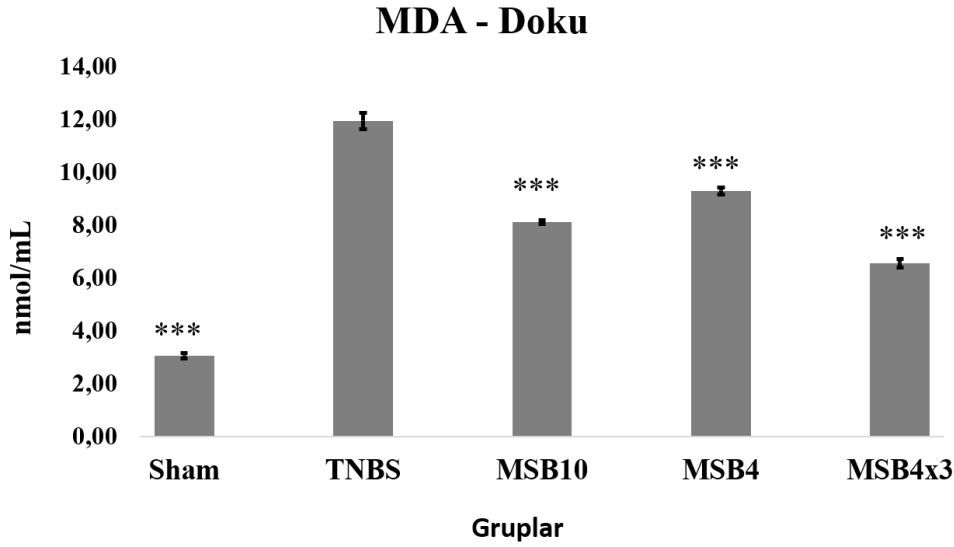
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$

Şekil 14. Grupların PGE₂ Serum düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.11. Doku MDA Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda MDA düzeyleri Sham grubunda $3,06 \pm 0,1$ nmol/mL olarak ölçülmüştür. TNBS uygulaması sonrasında bu değer belirgin şekilde artarak $11,94 \pm 0,3$ nmol/mL'ye ulaşmıştır (***: $p < 0,001$). Tedavi uygulanan MSB10, MSB4 ve MSB4x3 gruplarında MDA düzeyleri sırasıyla $8,11 \pm 0,08$ nmol/mL, $9,29 \pm 0,13$ nmol/mL ve $6,55 \pm 0,17$ nmol/mL olarak bulunmuştur. TNBS grubuna kıyasla bu üç tedavi grubunda da MDA düzeyleri anlamlı şekilde azalmıştır (***: $p < 0,001$). Gruplar arası doku MDA düzeyleri karşılaştırması Şekil 15'de sunulmuştur.



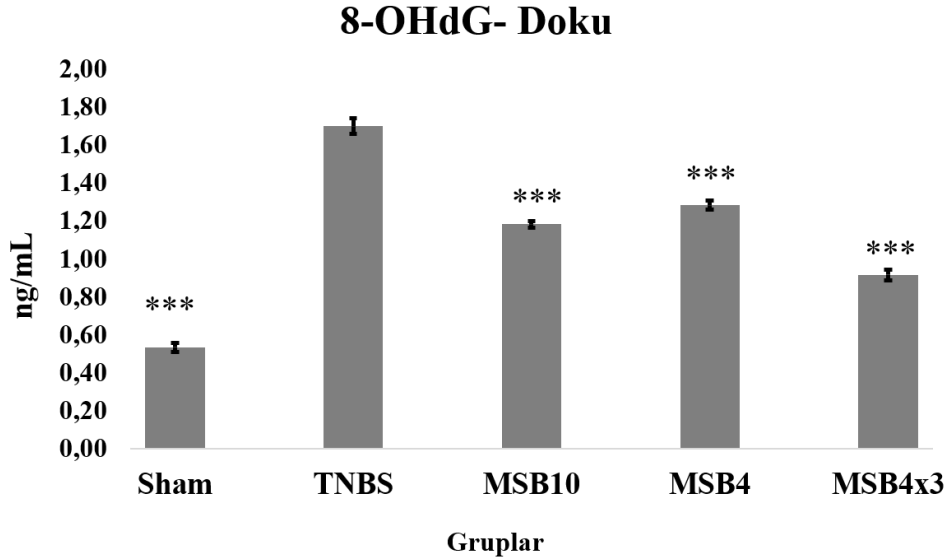
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 15. Grupların MDA Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.12. Doku 8-OHdG Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda 8-OHdG düzeyleri Sham grubunda $0,53 \pm 0,02$ ng/mL olarak belirlenmiştir. TNBS uygulaması sonrasında bu değer anlamlı şekilde artarak $1,7 \pm 0,04$ ng/mL seviyesine ulaşmıştır (***: $p<0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 tedavileriyle bu düzeyler sırasıyla $1,18 \pm 0,02$ ng/mL, $1,28 \pm 0,02$ ng/mL ve $0,91 \pm 0,03$ ng/mL olarak ölçülmüştür. TNBS grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında 8-OHdG düzeylerinde anlamlı azalma görülmüştür (***: $p<0,001$). Gruplar arası doku 8OHdg düzeyleri karşılaştırması Şekil 16’de sunulmuştur.



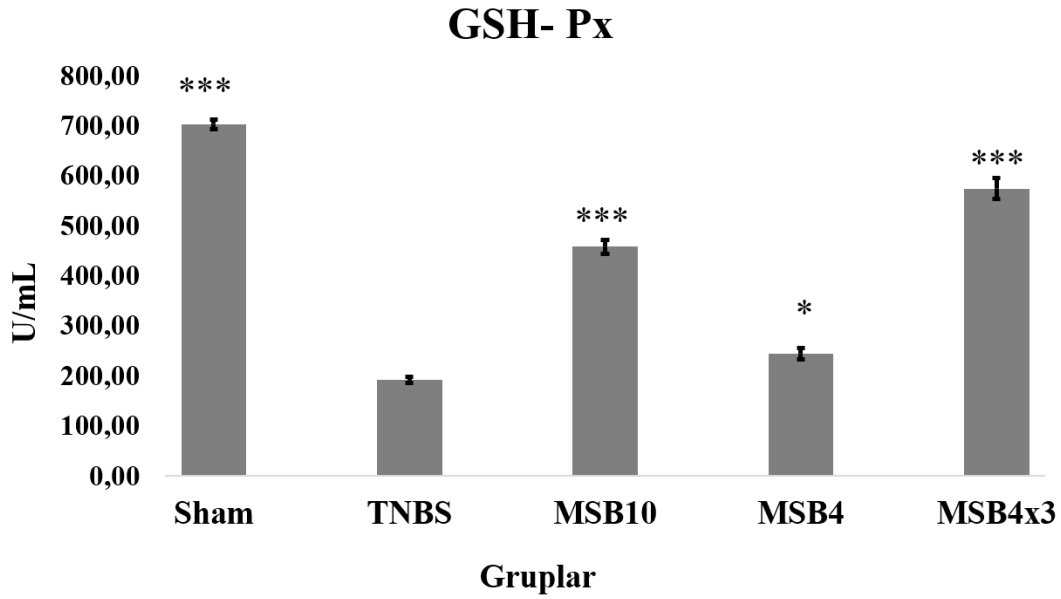
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p<0,001$, **: $p<0,01$, *: $p<0,05$

Şekil 16. Grupların 8-OHdG Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.13. Doku GSH-Px Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda GSH-Px düzeyleri Sham grubunda $702,93 \pm 9,38$ U/mL olarak belirlenmiştir. TNBS uygulaması sonrasında bu değer anlamlı şekilde azalarak $191,51 \pm 5,47$ U/mL seviyesine düşmüştür (***: $p < 0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 tedavi gruplarında GSH-Px düzeyleri sırasıyla $458,05 \pm 13,84$, $243,54 \pm 10,91$ ve $574,18 \pm 20,9$ U/mL olarak ölçülmüştür. TNBS grubuna kıyasla MSB10 ve MSB4x3 gruplarında ileri düzeyde (***: $p < 0,001$), MSB4 grubunda ise daha düşük anlamlılık düzeyinde (*: $p < 0,05$) olsa da GSH-Px düzeylerinde tüm tedavi gruplarında anlamlı artış gözlenmiştir. Gruplar arası doku GSH-Px düzeyleri karşılaştırması Şekil 17’de sunulmuştur.



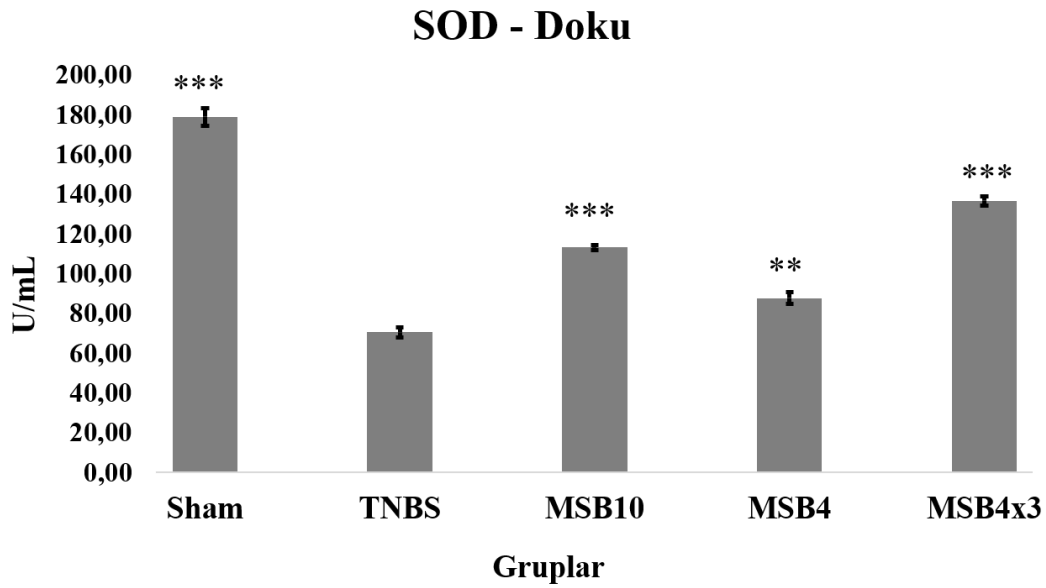
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 17. Grupların GSH-Px Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.14. Doku SOD Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda SOD düzeyleri Sham grubunda $178,68 \pm 4,31$ U/mL olarak ölçülmüştür. TNBS grubunda bu düzey belirgin şekilde azalarak $70,52 \pm 2,48$ U/mL'ye gerilemiştir (***: $p < 0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 ile tedavi edilen gruplarda SOD düzeyleri sırasıyla $113,06 \pm 1,37$ U/mL, $87,6 \pm 2,99$ U/mL ve $136,53 \pm 2,23$ U/mL olarak bulunmuştur. MSB10 ve MSB4x3 grupları ileri düzeyde (***: $p < 0,001$) düzeyde, MSB4 grubu ise orta düzeyde (**: $p < 0,01$) bir anlamlılık ile tüm tedavi gruplarında TNBS grubuna kıyasla SOD düzeylerinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Gruplar arası doku SOD düzeyleri karşılaştırması Şekil 18'de sunulmuştur.



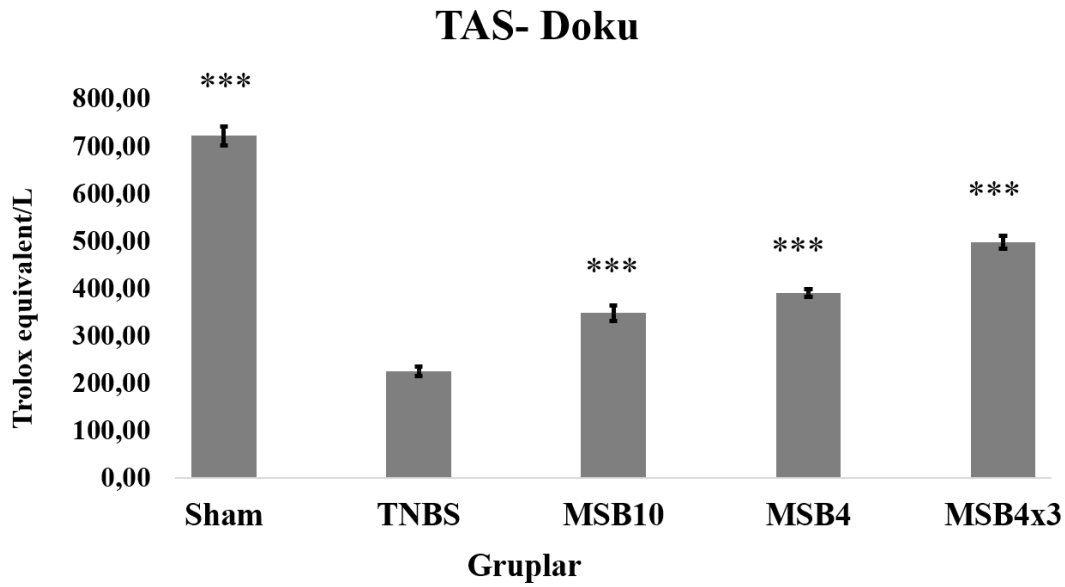
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 18. Grupların SOD Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.15. Doku TAS Düzeyleri Bulguları

TAS doku düzeyleri Sham grubunda $721,59 \pm 19,91$ Trolox equivalent/L olarak belirlenmiştir. TNBS uygulaması sonrasında bu değer anlamlı şekilde azalarak $224,73 \pm 10,15$ seviyesine düşmüştür (***: $p < 0,001$). Tedavi gruplarında TAS düzeyleri MSB10'da $347,52 \pm 16,15$, MSB4'te $389,4 \pm 8,33$ ve MSB4x3'te $496,28 \pm 13,63$ olarak ölçülmüştür. TNBS grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında TAS düzeylerinde anlamlı artış izlenmiştir (***: $p < 0,001$). Gruplar arası doku TAS düzeyleri karşılaştırması Şekil 19'de sunulmuştur.



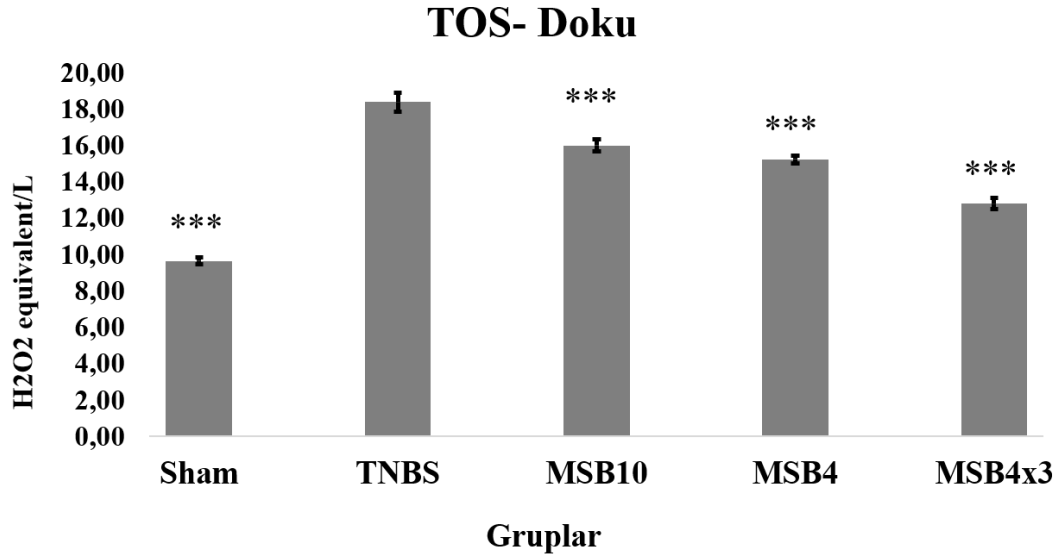
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 19. Grupların TAS Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.16. Doku TOS Düzeyleri Bulguları

Kolon dokusunda TOS düzeyleri; Sham grubunda $9,63 \pm 0,18$ H₂O₂ equivalent/L olarak belirlenmiştir. TNBS uygulaması sonrasında bu düzey anlamlı artış göstererek $18,37 \pm 0,5$ seviyesine ulaşmıştır (***: $p < 0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 ile tedavi edilen gruplarda TOS düzeyleri sırasıyla $15,98 \pm 0,33$, $15,22 \pm 0,21$ ve $12,79 \pm 0,31$ olarak ölçülmüştür. TNBS grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında TOS düzeylerinde anlamlı azalma tespit edilmiştir (***: $p < 0,001$). Gruplar arası doku TOS düzeyleri karşılaştırması Şekil 20’de sunulmuştur.



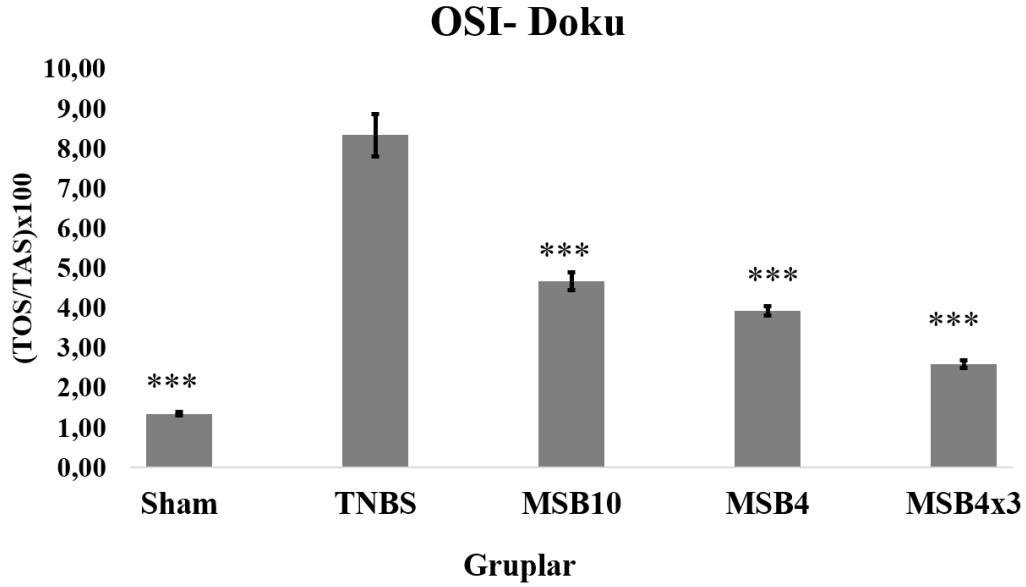
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 20. Grupların TOS Doku düzeylerinin karşılaştırılması.

4.2.17. Doku OSI Değerleri Bulguları

Kolon dokusunda hesaplanmış olan OSI değerleri; Sham grubunda $1,34 \pm 0,04$ olarak ölçülmüştür. TNBS uygulaması sonrasında bu değer anlamlı düzeyde artarak $8,33 \pm 0,53$ seviyesine ulaşmıştır (***: $p < 0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 tedavileriyle OSI değerleri sırasıyla $4,66 \pm 0,22$, $3,92 \pm 0,11$ ve $2,59 \pm 0,1$ olarak bulunmuştur. TNBS grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında OSI değerleri anlamlı azalma gözlenmiştir (***: $p < 0,001$). Gruplar arası hesaplanmış doku OSI değerleri karşılaştırması Şekil 21’de sunulmuştur.



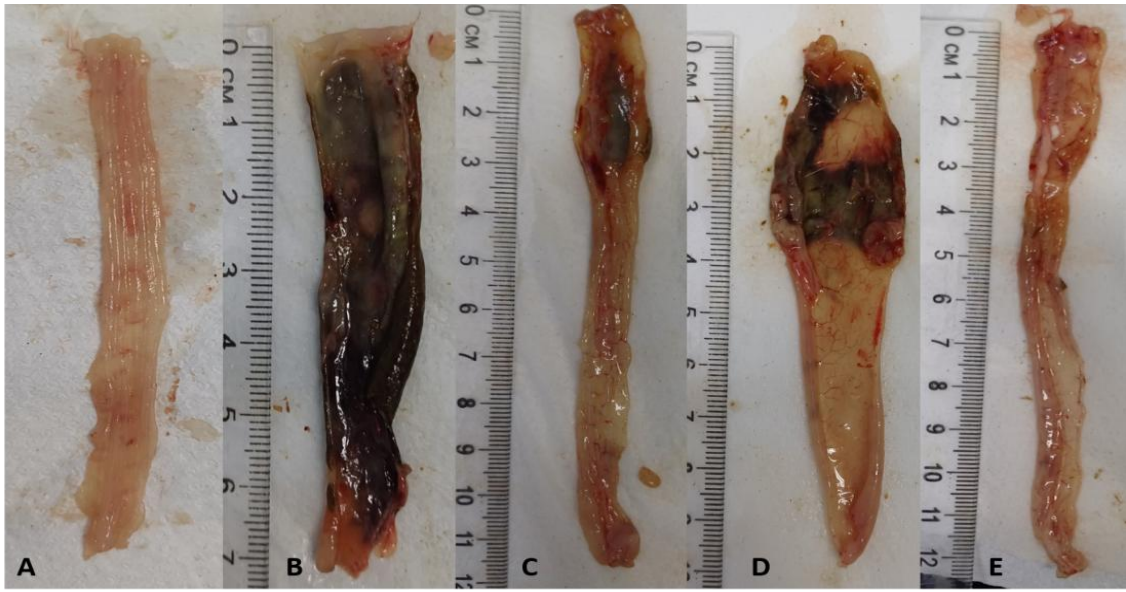
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 21. Grupların doku OSI değerleri karşılaştırılması.

4.3. Makroskopik Bulgular

Makroskopik inceleme Wallace ve diğerkleri 1990' a göre 0-10 arası skorlanarak yapıldı. Tüm gruplara ait makroskopik skorlar Tablo 3. de sunuldu. Sonuçlara göre, Sham grubunda makroskopik hasar görülmedi, TNBS grubunda hasar en üst düzeyde olup, tedavi gruplarında makroskopik hasarın ve yayılımının azaldığı daha lokalize olmuş lezyonlar şeklinde izlendi (Resim 14.)



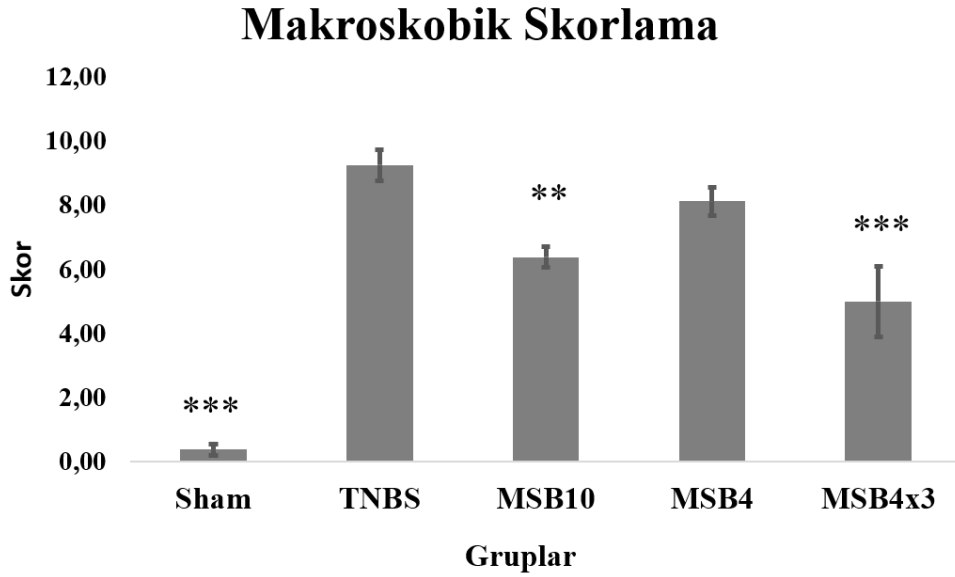
A: Sham grubu, B: TNBS grubu, C: MSB10 grubu, D: MSB4 grubu, E: MSB4x3 grubu

Resim 14. Tüm grupların temsili makroskopik görünimleri

Tablo 3. Tüm gruplara ait makroskopik skorlama sonuçları

Gruplar	Sham	TNBS	MSB10	MSB4	MSB4x3
Ort $\pm$ SEM	0,38 $\pm$ 0,18	9,25 $\pm$ 0,50	6,38 $\pm$ 0,32	8,13 $\pm$ 0,44	5,00 $\pm$ 1,10

Makroskobik skor ortalamaları sham grubunda $0,38 \pm 0,18$ olarak belirlenmiştir. TNBS uygulaması sonrasında bu düzey anlamlı bir artış göstererek $9,25 \pm 0,50$ seviyesine ulaşmıştır (** $p < 0,001$). Tedavi gruplarında MSB10 grubunda $6,38 \pm 0,32$ ortalama ile anlamlı olarak azalmıştır (* $p < 0,01$). MSB4 grubunda $8,13 \pm 0,44$ ortalama ile TNBS grubuna göre daha düşük bir ortalama skor elde edilse de anlamlı düzeyde bir makroskobik iyileşme gözlenememiştir ($p > 0,05$). MSB4x3 grubunda ise ortalama skor ve $5,00 \pm 1,10$ olarak ölçülmüş ve TNBS grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bir iyileşme gözlenmiştir (** $p < 0,001$). Gruplar arası makroskobik skorların karşılaştırılması Şekil 22’de sunulmuştur.



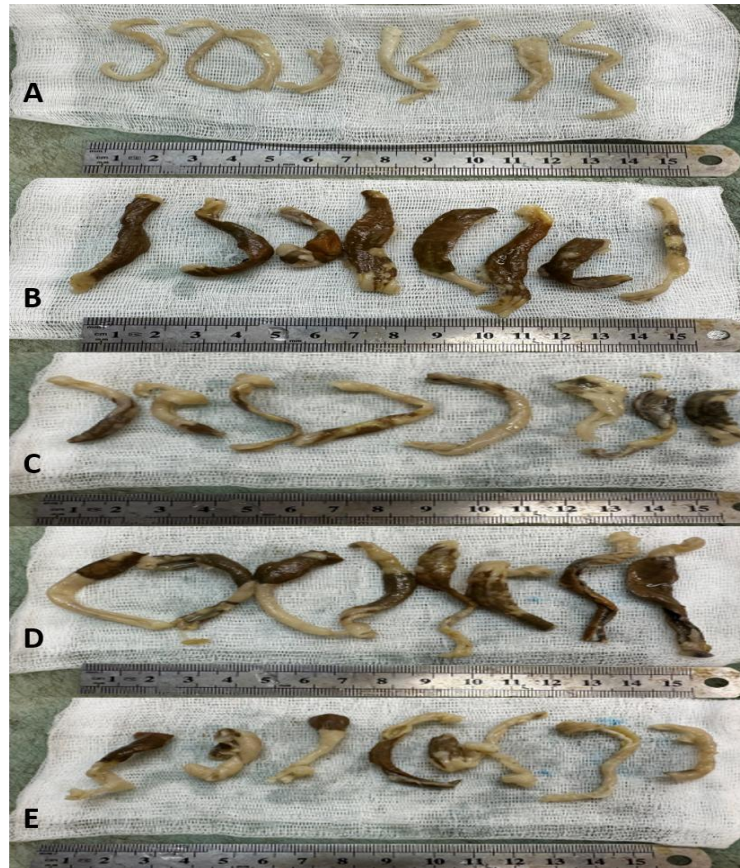
Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$

Şekil 22. Grupların makroskobik skorlarının karşılaştırılması.

4.4. Histopatolojik Bulgular

Sakrifikasyon sonrası alınan dokular %10 luk formalin solüsyonunda tesbit edildi. Fikse edilmiş dokulara ait toplu görseller Resim 15.'de sunuldu. Yöntem bölümünde açıklanan histopatolojik hazırlık ve inceleme posedürlerine göre yapılan ve incelemelerde İltihabi infiltrasyonun derecesi, hemoraji, nekroz, kript apselerinin varlığı, goblet hücrelerinde azalma, mukozal yapı kaybı, ödem, kolon duvarında kalınlaşma ve morfolojik değişiklikleri açısından değerlendirme yapıldı. Her parametre için kullanıldı: yok (0), hafif (1), orta (2) ve yoğun (3) olmak üzere 3 ölçek kullanıldı (Gonzáles ve diğerleri, 1999; Appleyard ve Wallace, 1995). Tüm gruplara ait toplu sonuçlar Tablo 4'de sunuldu.



A: Sham grubu, B: TNBS grubu, C: MSB10 grubu, D: MSB4 grubu, E: MSB4x3 grubu

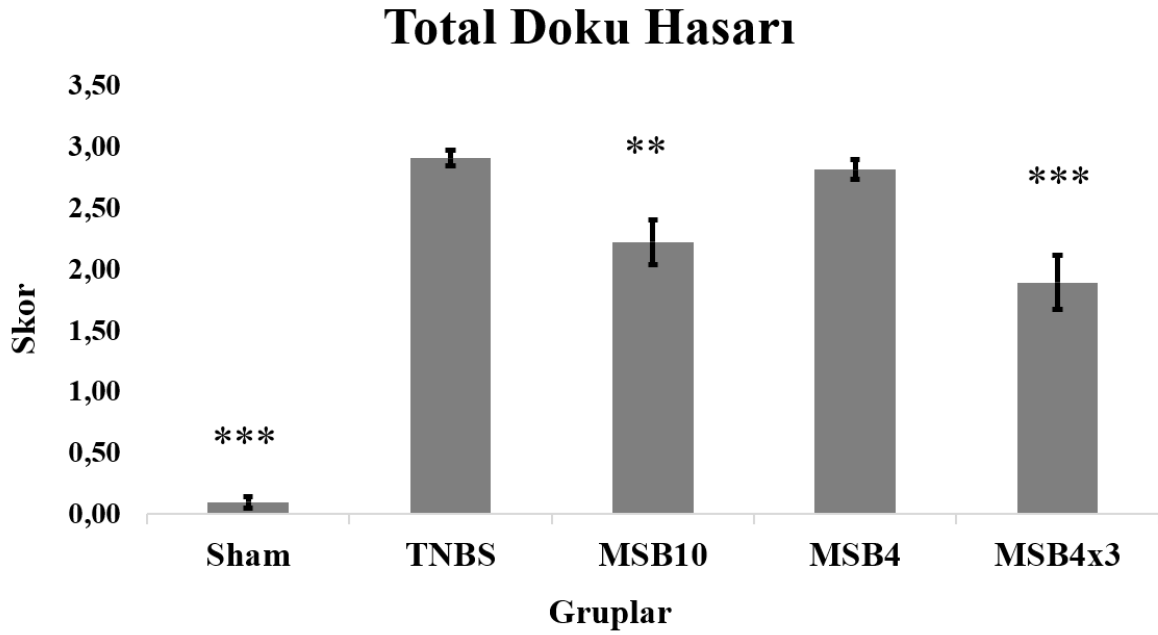
Resim 15. Fikse edilmiş olan kolon dokularının görünümü

4.4.1. Total Histopatolojik Bulgular

Tablo 4.Tüm gruplara ait histopatolojik skorlama tablosu

	Sham	TNBS	MSB10	MSB4	MSB4x3
İltihabi İnfiltrasyon	0,38 ± 0,18	3,00 ± 0,00	2,38 ± 0,18	2,75 ± 0,16	2,00 ± 0,27
Hemoraji	0,00 ± 0,00	2,75 ± 0,16	1,75 ± 0,25	2,63 ± 0,18	1,50 ± 0,19
Nekroz	0,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	2,38 ± 0,18	3,00 ± 0,00	2,25 ± 0,16
Kript_ Apseleri	0,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	2,38 ± 0,18	2,88 ± 0,13	2,00 ± 0,27
Goblet Hücre Azalması	0,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	2,38 ± 0,18	3,00 ± 0,00	2,00 ± 0,27
Mukozal Yapı Kaybı	0,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	2,38 ± 0,18	3,00 ± 0,00	2,00 ± 0,27
Kolon Duvar Kalınlaşması	0,00 ± 0,00	2,75 ± 0,16	1,75 ± 0,25	2,63 ± 0,18	1,50 ± 0,19
Ödem	0,38 ± 0,18	2,75 ± 0,16	2,38 ± 0,18	2,63 ± 0,18	1,88 ± 0,30
TOTAL	0,09 ± 0,05	2,91 ± 0,06	2,22 ± 0,19	2,81 ± 0,08	1,89 ± 0,22

Histopatolojik toplam skorlamaya göre, sham grubunda ortalama değer $0,09 \pm 0,05$ iken, TNBS grubunda bu değer anlamlı şekilde artarak $2,91 \pm 0,06$ 'ya yükselmiştir ($p^{***}<0,001$). MSB10, MSB4 ve MSB4x3 tedavi gruplarında sırasıyla $2,22 \pm 0,19$ ile $2,81 \pm 0,08$ ve $1,89 \pm 0,22$ değerleri elde edilmiştir. TNBS grubuna kıyasla anlamlı azalma MSB10 ($**p<0,01$) ve MSB4x3 gruplarında gözlenmiştir ($***p<0,001$). MSB4 grubunda total doku hasarında anlamlı bir iyileşme gözlenmemiştir ($p>0,05$). İyileşme gösteren gruplar ve anlamlılık düzeyleri makroskopik skorlama bulguları ile benzer şekilde bulunmuştur. Tüm grupların her parametre için histopatolojik skorlama sonuçlarının gösterildiği toplu sonuçlar Tablo 4.'de sunulmuştur. Gruplar arası total doku hasarı karşılaştırması Şekil 23'de sunulmuştur. Tüm gruplara ait temsili fotoğraflar Resim 24.- Resim 39. arasında sunulmuştur.



Tüm gruplar TNBS grubuna göre karşılaştırılmıştır.

***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, * : $p < 0,05$

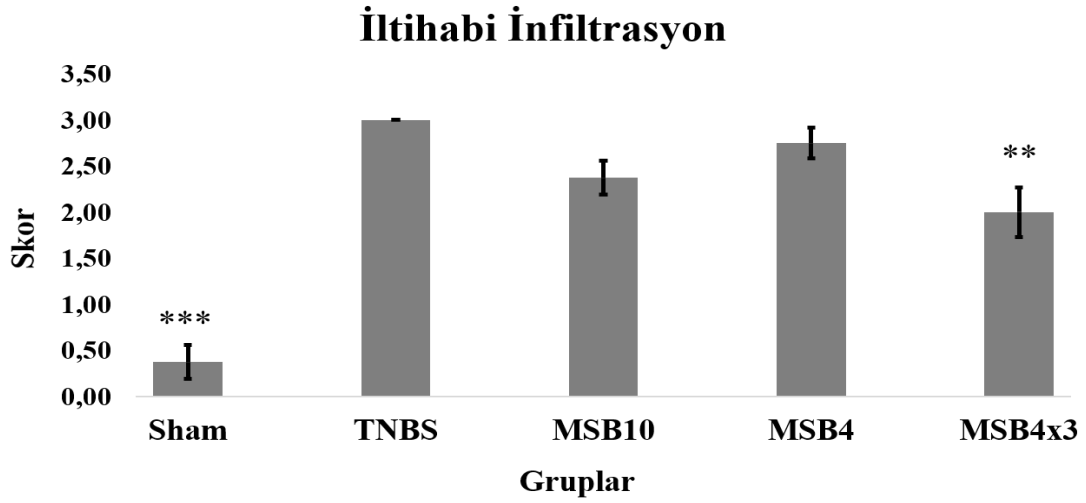
Şekil 23. Grupların total doku hasarı skorlarının karşılaştırılması.

Tüm histopatolojik parametrelerin gruplar arası karşılaştırması ANOVA post hoc Dunnett's testi ile yapıldı ve tüm gruplar iyileşmenin olup olmadığını saptamak açısından TNBS grubu ile karşılaştırıldı. Anlamli olan gruplarda anlamlılık düzeylerini gösteren p değerleri, ***: $p < 0,001$, **: $p < 0,01$, * : $p < 0,05$ olarak gösterildi. $p > 0,05$ olan ve anlamlı fark bulunamayan gruplarda herhangi bir simge kullanılmadı. Tüm grafikler Şekil 23.- Şekil 30. arasında gösterildi.

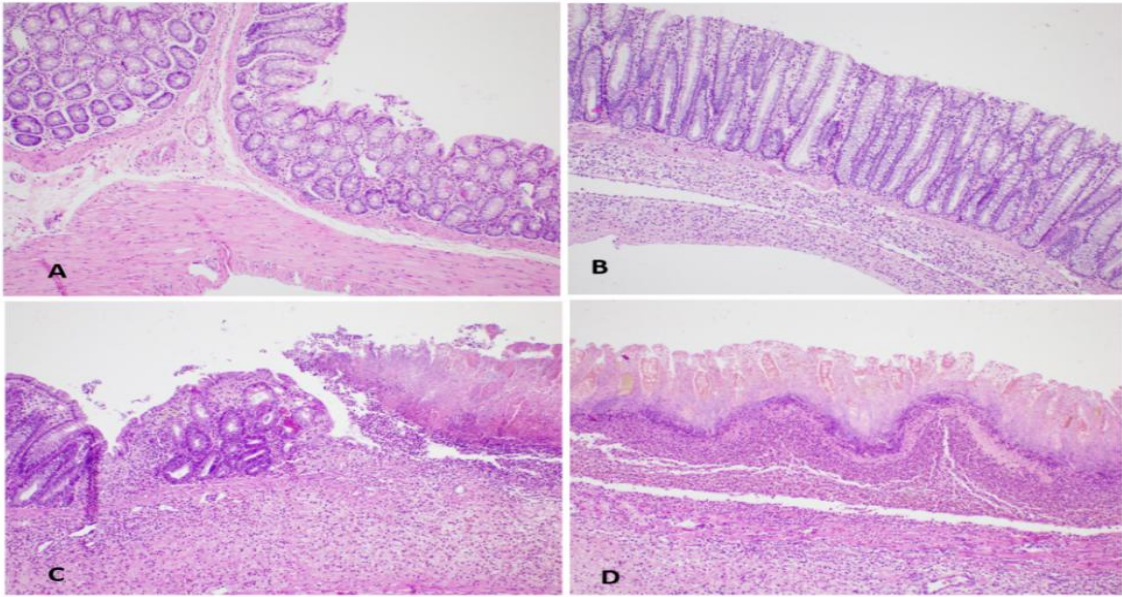
4.4.2. İltihabi İnfiltrasyon Bulguları

İnflamatuvar infiltrasyon skoru sham grubunda $0,38 \pm 0,18$ olarak saptanmıştır. TNBS uygulamasıyla bu skor anlamlı şekilde artarak $3,00 \pm 0,00$ düzeyine ulaşmıştır (** $p < 0,001$). Tedavi gruplarında sırasıyla MSB10, MSB4 ve MSB4x3 için $2,38 \pm 0,18$, $2,75 \pm 0,16$ ve $2,00 \pm 0,27$ değerleri elde edilmiştir. TNBS grubuna kıyasla anlamlı azalma MSB4x3 (**: $p < 0,01$) gruplarında izlenirken, MSB10 ve MSB4 grubunda TNBS grubuna

göre daha düşük skorlar izlen se de istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$). Gruplara ait iltihabi filtrasyon skorları Şekil 24’de sunulmuştur. Ayrıca her iltihabi infiltrasyon skoruna ait temsili resimler Resim 16’da sunulmuştur.



Şekil 24. Grupların iltihabi infiltrasyon skorlarının karşılaştırılması.

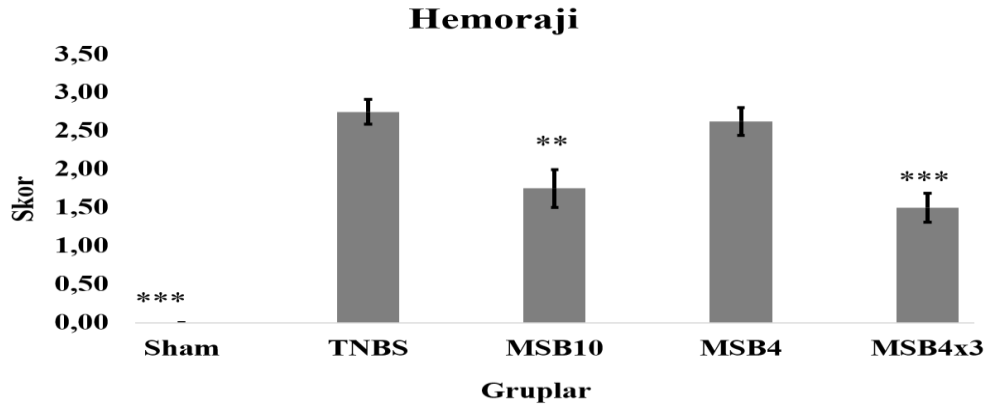


Resim 16. İltihabi infiltrasyon skorları temsili fotoğraflar (H&E, 100X)

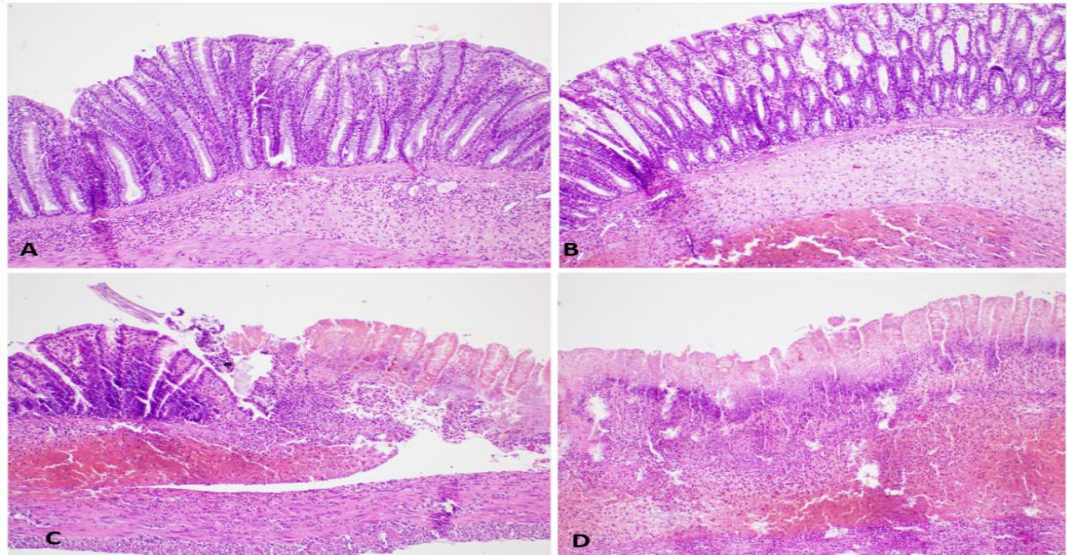
A: Skor 0, B: Skor 1, C: Skor 2, D: Skor 3

4.4.3. Hemoraji Bulguları

Hemoraji skoru sham grubunda $0,00 \pm 0,00$ olarak belirlenmiştir. TNBS uygulaması ile bu değer anlamlı şekilde artarak $2,75 \pm 0,16$ düzeyine ulaşmıştır (***: $p < 0,001$). MSB10 grubunda $1,75 \pm 0,25$, MSB4 grubunda $2,63 \pm 0,18$ ve MSB4x3 grubunda $1,50 \pm 0,19$ değerleri elde edilmiştir. TNBS grubuna kıyasla anlamlı azalma MSB10 (**: $p < 0,01$) ve MSB4x3 (***: $p < 0,001$) gruplarında izlenirken, MSB4 grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Gruplara ait hemoraji skorları Şekil 25’de sunulmuştur. Ayrıca her hemoraji skoruna ait temsili resimler Resim 17’de sunulmuştur.



Şekil 25. Grupların hemoraji skorlarının karşılaştırılması.

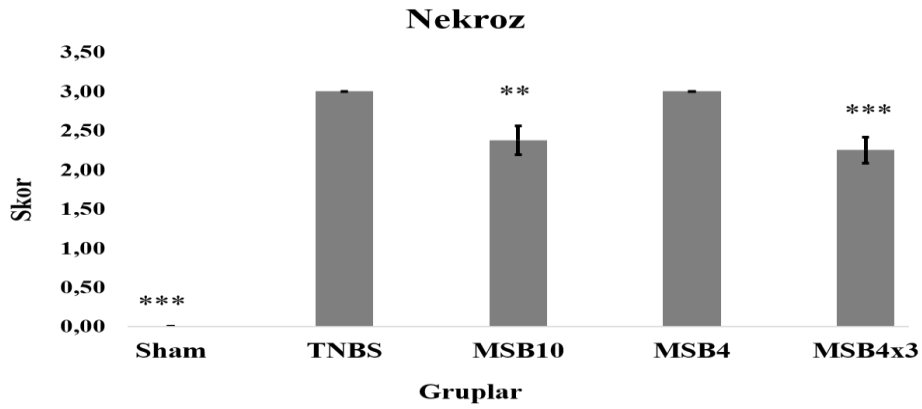


Resim 17. Hemoraji skorları temsili fotoğraflar (H&E, 100X)

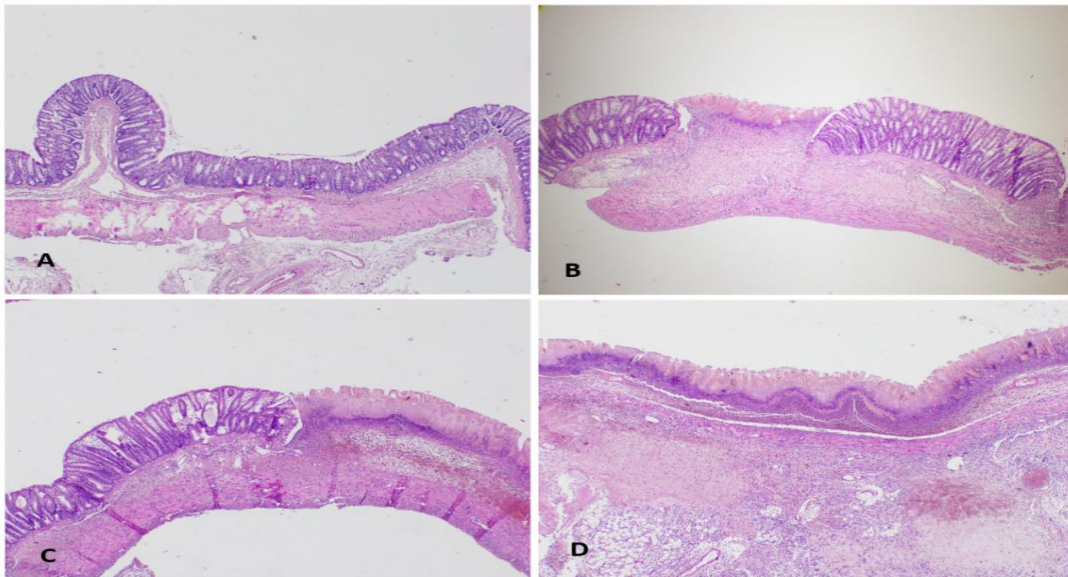
A: Skor 0, B: Skor1, C: Skor 2, D: Skor 3

4.4.4. Nekroz Bulguları

Nekroz skoru sham grubunda $0,00 \pm 0,00$ olarak saptanmıştır. TNBS uygulaması ile bu değer anlamlı şekilde artarak $3,00 \pm 0,00$ düzeyine yükselmiştir (***: $p < 0,001$). Tedavi gruplarında; MSB10 için $2,38 \pm 0,18$, MSB4 için $3,00 \pm 0,00$ ve MSB4x3 için $2,25 \pm 0,16$ değerleri elde edilmiştir. TNBS grubuna kıyasla MSB10 (**: $p < 0,01$) ve MSB4x3 (***: $p < 0,001$) gruplarında anlamlı bir azalma izlenirken, MSB4 grubunda TNBS grubuna göre anlamlı fark gözlenmemiştir. Gruplara ait nekroz skorları Şekil 26’de sunulmuştur. Ayrıca her nekroz skoruna ait temsili resimler Resim 18’de sunulmuştur.



Şekil 26. Grupların nekroz skorlarının karşılaştırılması

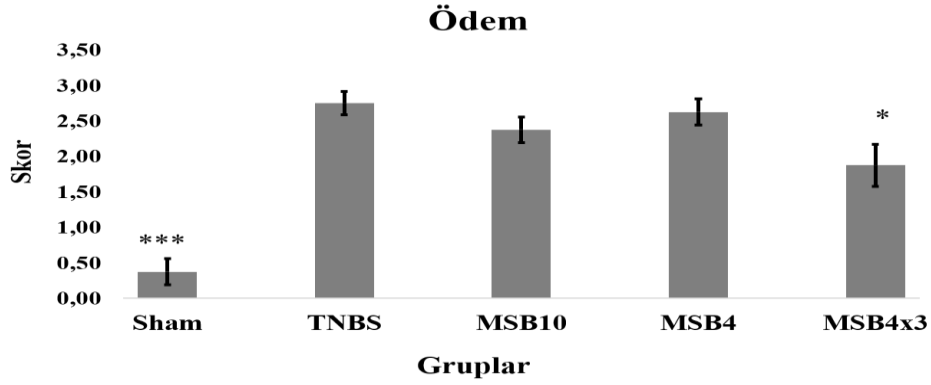


Resim 18. Nekroz skorları temsili fotoğraflar (H&E, 40X)

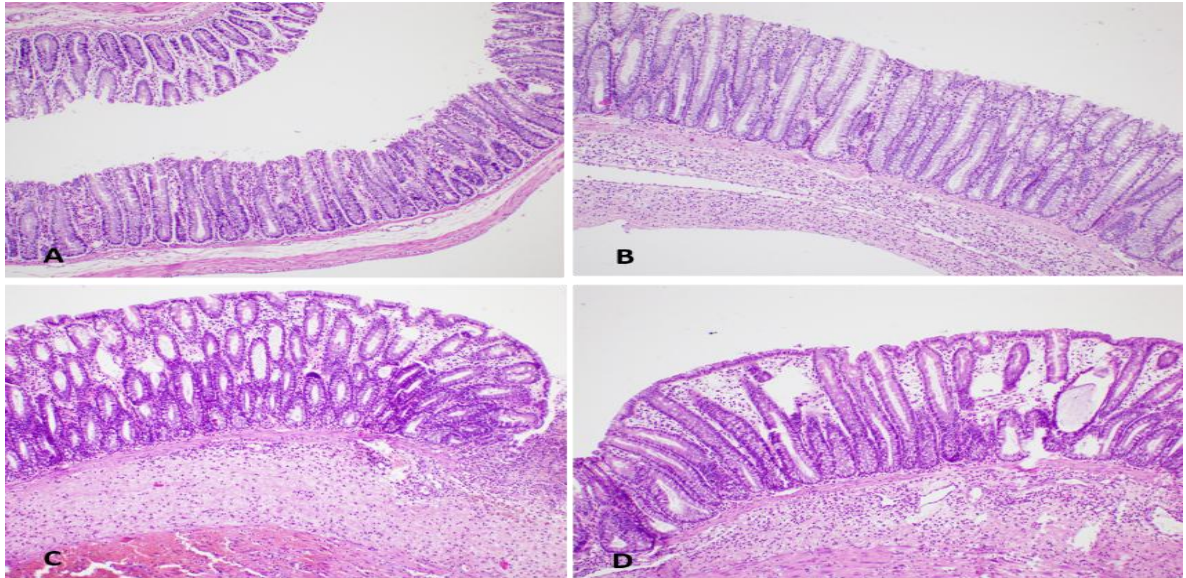
A: skor 0, B: skor 1, C: skor 2, D: skor 3

4.4.5. Ödem Bulguları

Histopatolojik ödem değerlendirmesinde, TNBS grubu $2,75 \pm 0,16$ ortalama skor ile Sham grubunun $0,38 \pm 0,18$ ortalama skoruna kıyasla anlamlı düzeyde artmış ödem skoruna sahipti (** $p < 0,001$). MSB10 grubunda ödem skoru $2,38 \pm 0,18$, MSB4 grubunda ise $2,63 \pm 0,18$ olarak belirlenmiş fakat her iki grupta da anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). MSB4x3 grubunda ödem skoru $1,88 \pm 0,30$ ile TNBS grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (*: $p < 0,05$). Gruplara ait ödem skorları Şekil 27’de sunulmuştur. Ayrıca her ödem skoruna ait temsili resimler Resim 19’da sunulmuştur.



Şekil 27. Grupların ödem skorlarının karşılaştırılması.

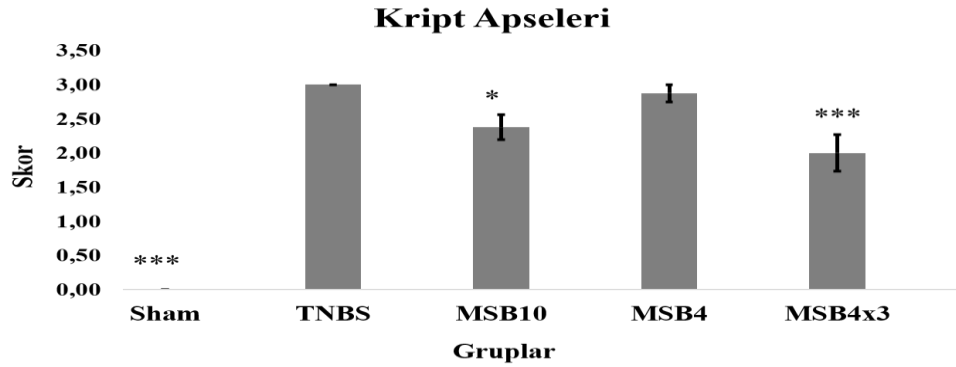


Resim 19. Ödem skorları temsili fotoğraflar (H&E, 100X)

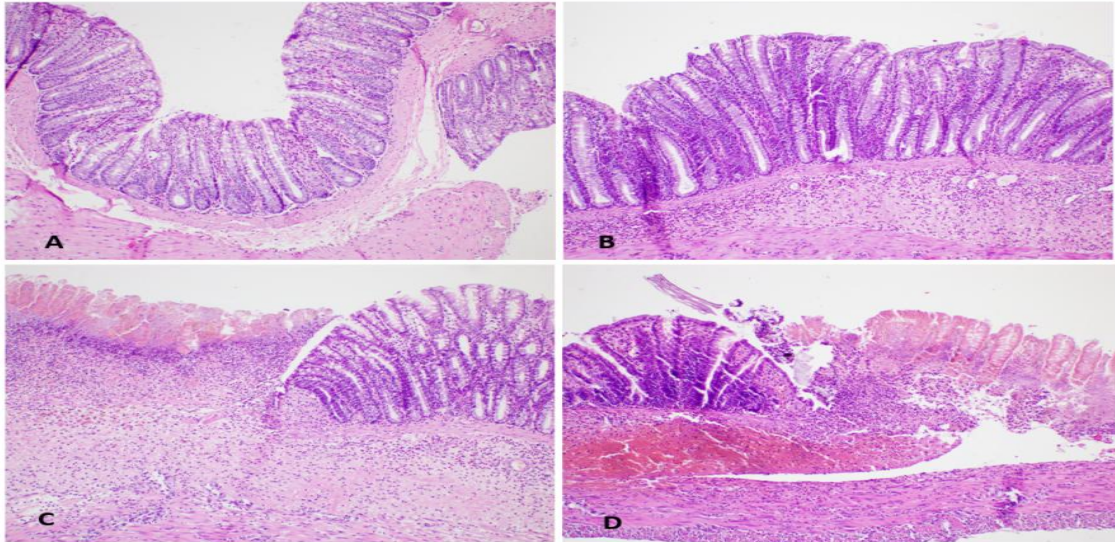
A:Skor 0, B:Skor 1, C:Skor 2, D: Skor 3

4.4.6. Kript Apseleri Bulguları

Histopatolojik kript apsesi skorlamasında, TNBS grubu $3,00 \pm 0,00$ ile en yüksek skora ulaşmış ve Sham grubunun en düşük skor olan $0,00 \pm 0,00$ ortalamasına göre ileri düzeyde anlamlı fark (***: $p < 0,001$). MSB ile tedavi edilen grupların tamamında kript apsesi skorları TNBS grubuna göre daha düşük bulunmuştur. MSB10 grubunda $2,38 \pm 0,18$ olan skor (*: $p < 0,05$) ve MSB4x3 grubunda $2,00 \pm 0,27$ olan skor (***: $p < 0,001$). TNBS'ye göre anlamlı bulunmuştur. MSB4 ($2,88 \pm 0,13$) grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Gruplara ait kript apseleri skorları Şekil 28'de sunulmuştur. Ayrıca her kript apseleri skoruna ait temsili resimler Resim 20'de sunulmuştur.



Şekil 28. Grupların kript apseleri skorlarının karşılaştırılması.

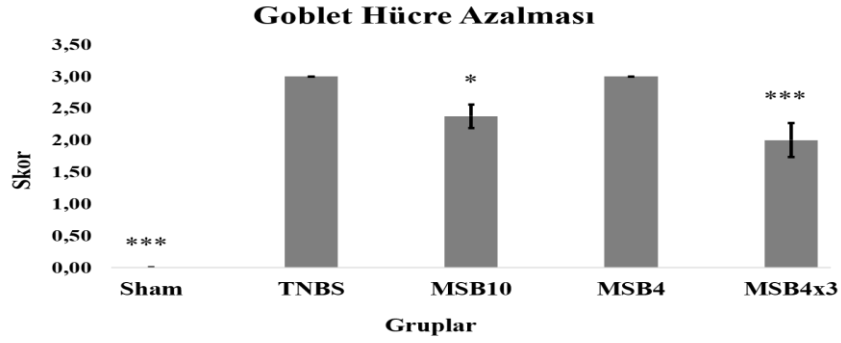


Resim 20. Kript apseleri skorları temsili fotoğraflar (H&E, 100X)

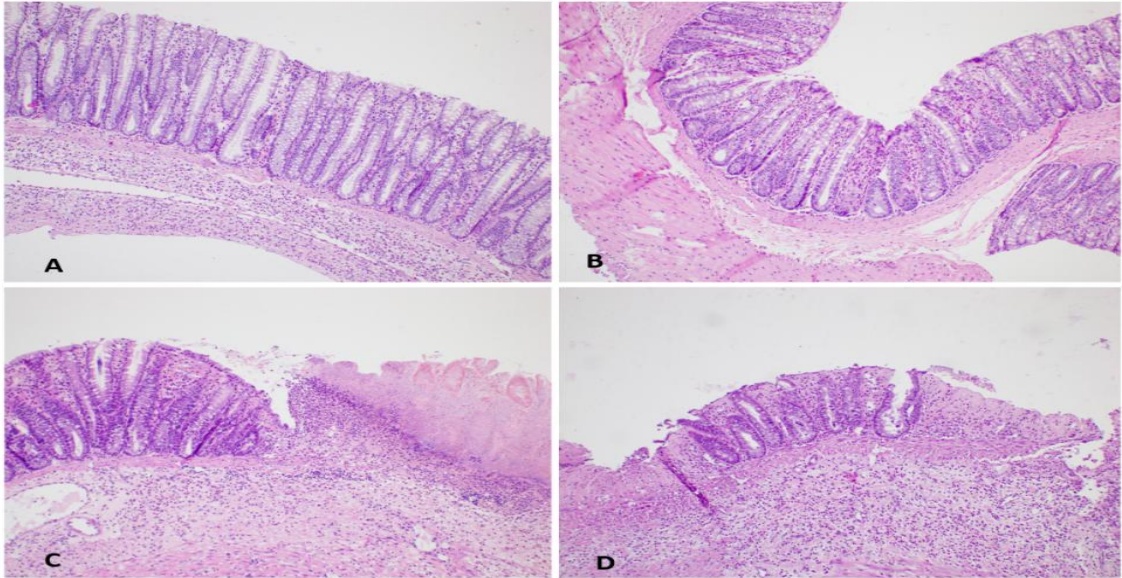
A:Skor 0, B:Skor 1, C:Skor 2, D:Skor 3

4.4.7. Goblet Hücre Kaybı Bulguları

Histopatolojik goblet hücre azalması skorlamasında, TNBS grubu $3,00 \pm 0,00$ ile en yüksek değere ulaşmış ve Sham grubunun $0,00 \pm 0,00$ değerine göre ileri düzeyde anlamlı fark göstermiştir (***: $p < 0,001$). MSB10 grubunda $2,38 \pm 0,18$ olan skor (*: $p < 0,05$) ve MSB4x3 grubunda ise $2,00 \pm 0,27$ olan skor (***: $p < 0,001$), TNBS grubuna göre anlamlı derecede düşmüştür. MSB4 grubunda ise değer $3,00 \pm 0,00$ olup, TNBS grubuna göre herhangi bir anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Gruplara ait goblet hücre azalması skorları Şekil 29’de sunulmuştur. Goblet hücre azalması skorlarına ait temsili resimler Resim 21’de sunulmuştur.



Şekil 29. Grupların goblet hücre azalması skorlarının karşılaştırılması.



Resim 21. Goblet hücre kaybı skorları temsili fotoğraflar (H&E, 100X)

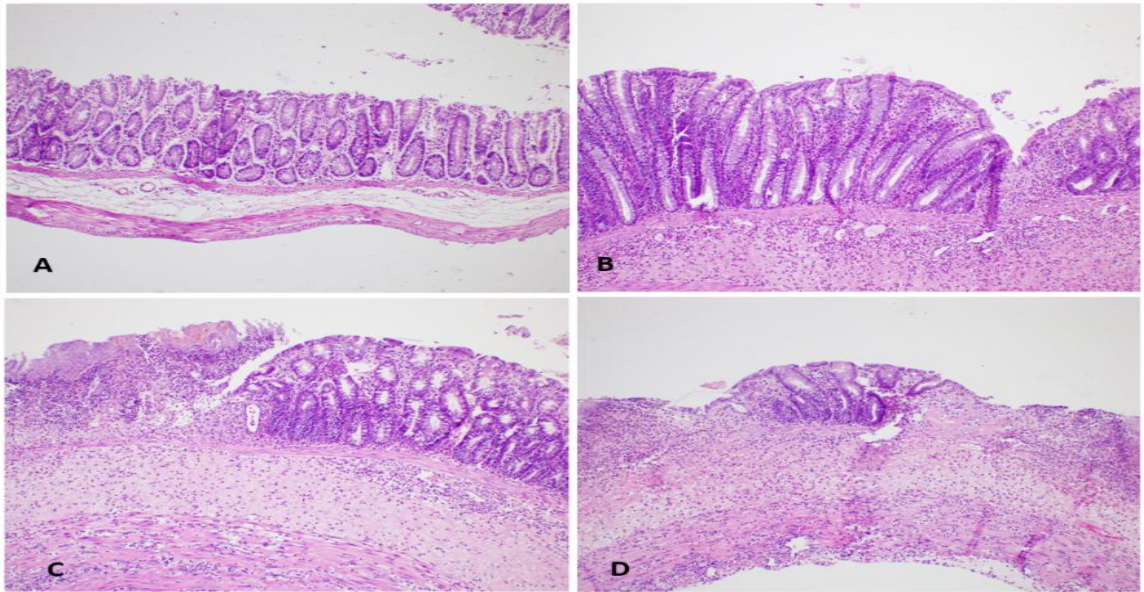
A: Skor 0, B: Skor 1, C: Skor2, D: Skor 3

4.4.8. Mukozal Yapı Kaybı Bulguları

Histopatolojik mukozal yapı kaybı değerlendirmesinde, TNBS grubu $3,00 \pm 0,00$ ile en yüksek skora ulaşmış ve Sham grubunun $0,00 \pm 0,00$ değerine göre ileri düzeyde anlamlı fark göstermiştir (***: $p < 0,001$). MSB10 grubunda $2,38 \pm 0,18$ olan skor (*: $p < 0,05$) ile MSB4x3 grubunda gözlenmiş $2,00 \pm 0,27$ olan skor (***: $p < 0,001$) TNBS grubuna göre anlamlı azalma gösterirken, MSB4 grubunda ise değer $3,00 \pm 0,00$ olup, TNBS grubuna göre anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Grupların mukozal yapı kaybı skorları Şekil 30'de sunulmuştur. Mukozal yapı kaybı skorlarına ait temsili resimler Resim 22'de sunulmuştur.



Şekil 30. Grupların mukozal yapı kaybı skorlarının karşılaştırılması.

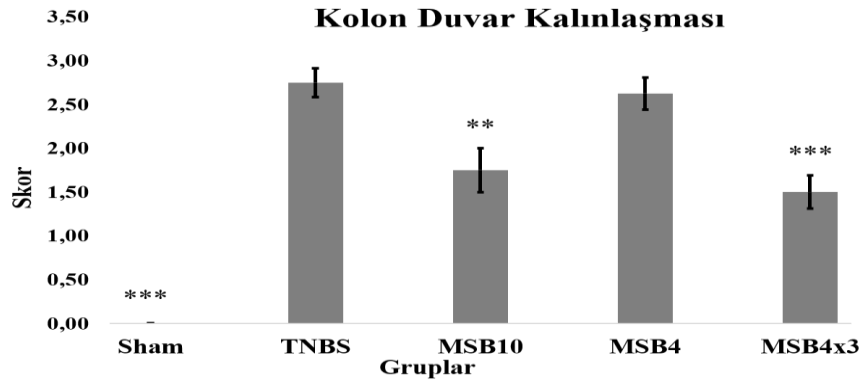


Resim 22. Mukozal yapı kaybı skorları temsili fotoğraflar (H&E, 100X)

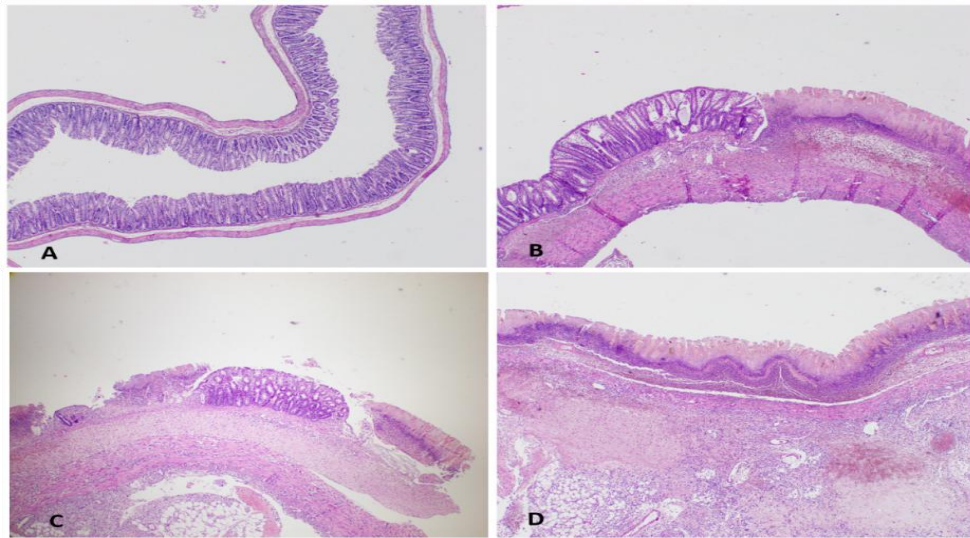
A: Skor 0, B: Skor 1, C: Skor 2, D: Skor 3

4.4.9. Kolon Duvar Kalınlaşması Bulguları

Histopatolojik kolon duvar kalınlaşması değerlendirmesinde, TNBS grubu $2,75 \pm 0,16$ ile en yüksek değere ulaşmış ve Sham grubunun $0,00 \pm 0,00$ değerine göre ileri düzeyde anlamlı fark göstermiştir (***: $p < 0,001$). MSB10 grubunda $1,75 \pm 0,25$ olan skor (**: $p < 0,01$) ve MSB4x3 grubunda $1,50 \pm 0,19$ olan skor (***: $p < 0,001$) ile TNBS grubuna göre anlamlı azalma saptanmıştır. MSB4 grubunda ise değer $2,63 \pm 0,18$ olup, TNBS grubuna göre anlamlı fark saptanmamıştır. Grupların kolon duvar kalınlaşması skorları Şekil 31’de sunulmuştur. Kolon duvar kalınlaşması skorlarına ait temsili resimler Resim 23’de sunulmuştur.

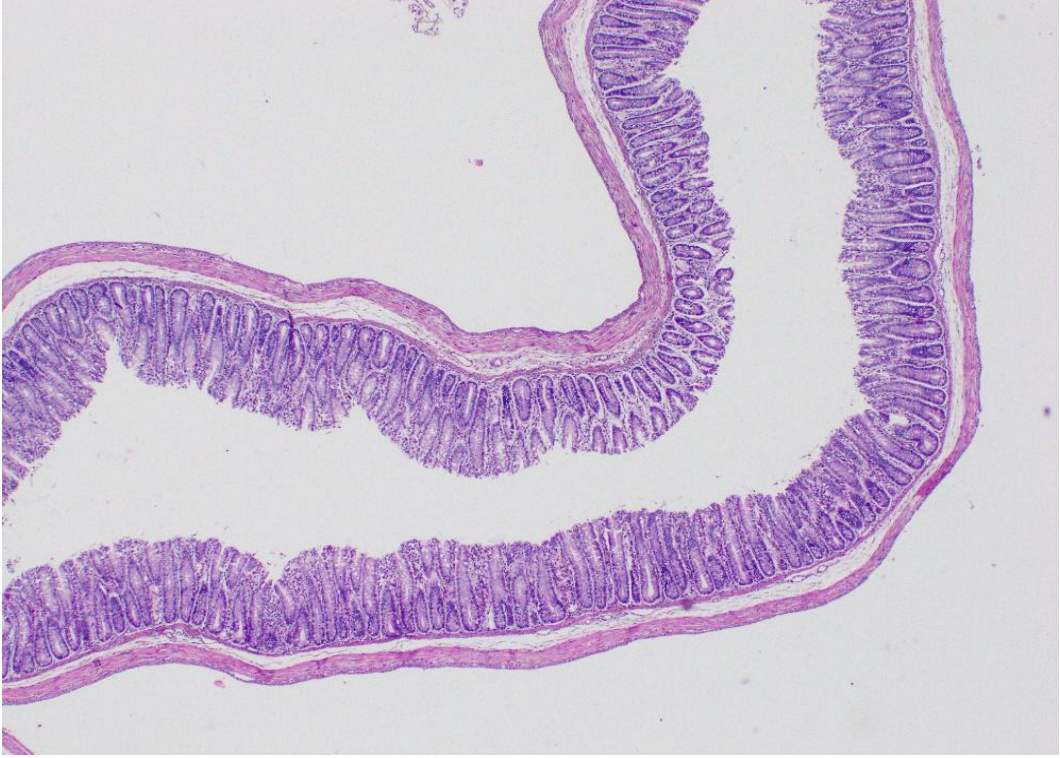


Şekil 31. Grupların kolon duvar kalınlaşması skorlarının karşılaştırılması.

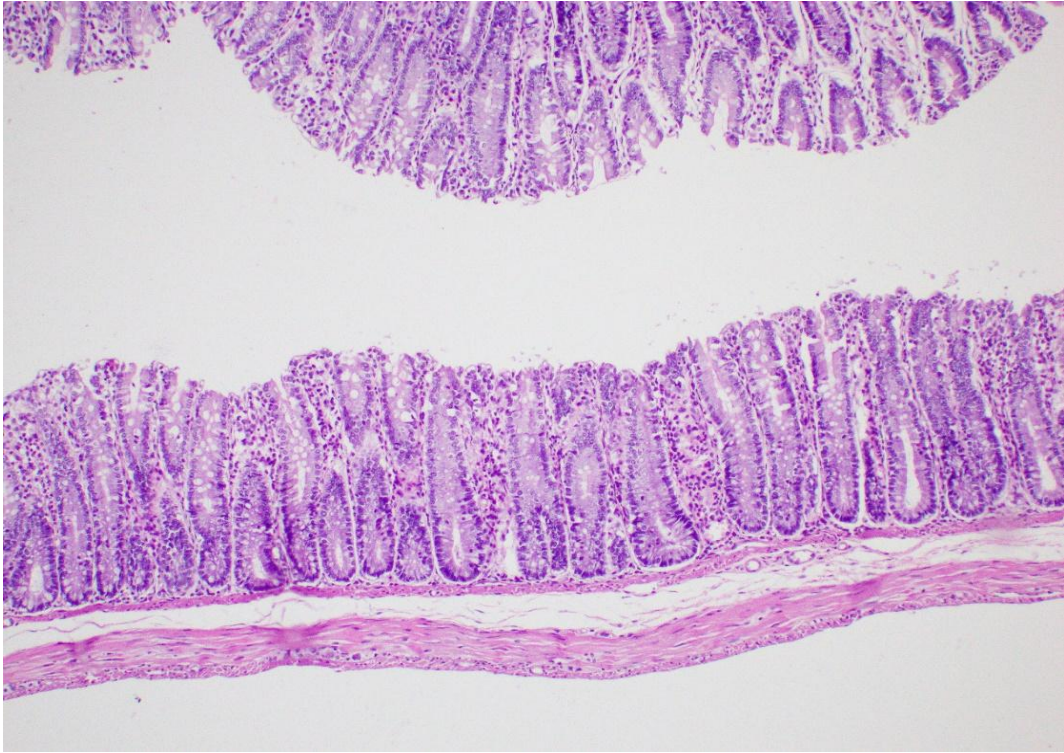


Resim 23. Kolon duvar kalınlaşması skorları temsili fotoğraflar (H&E, 40X)

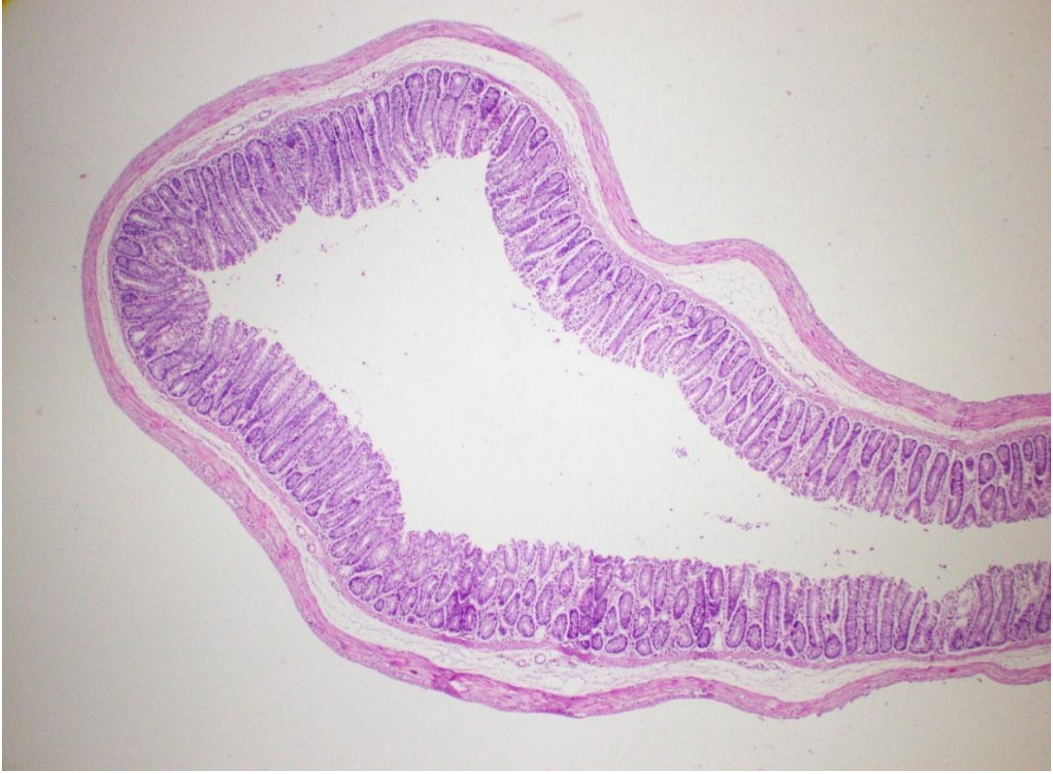
A:Skor 0,B:Skor 1, C:Skor 2, D:Skor 3



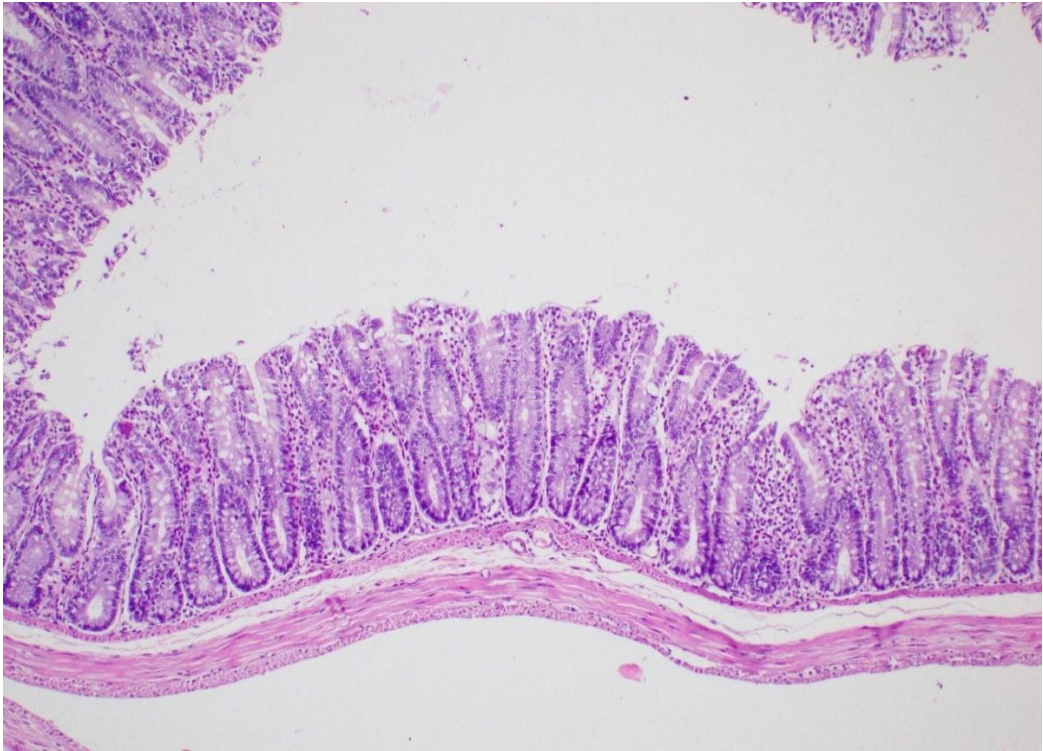
Resim 24. Sham grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)



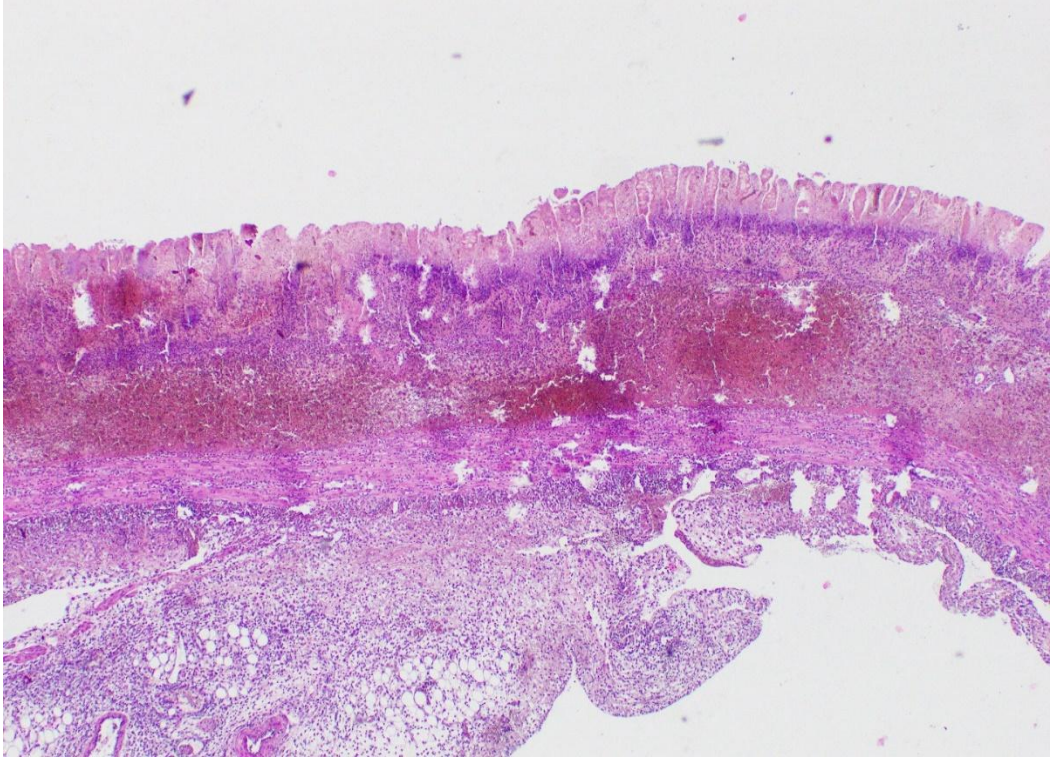
Resim 25. Sham grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)



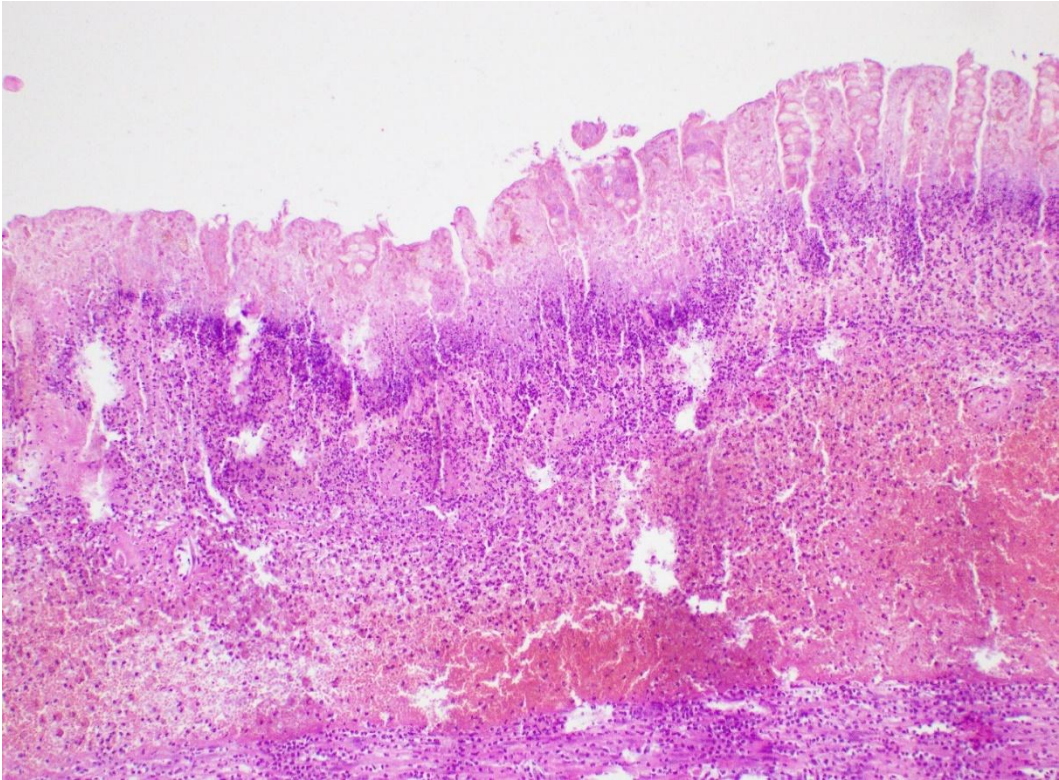
Resim 26. Sham grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)



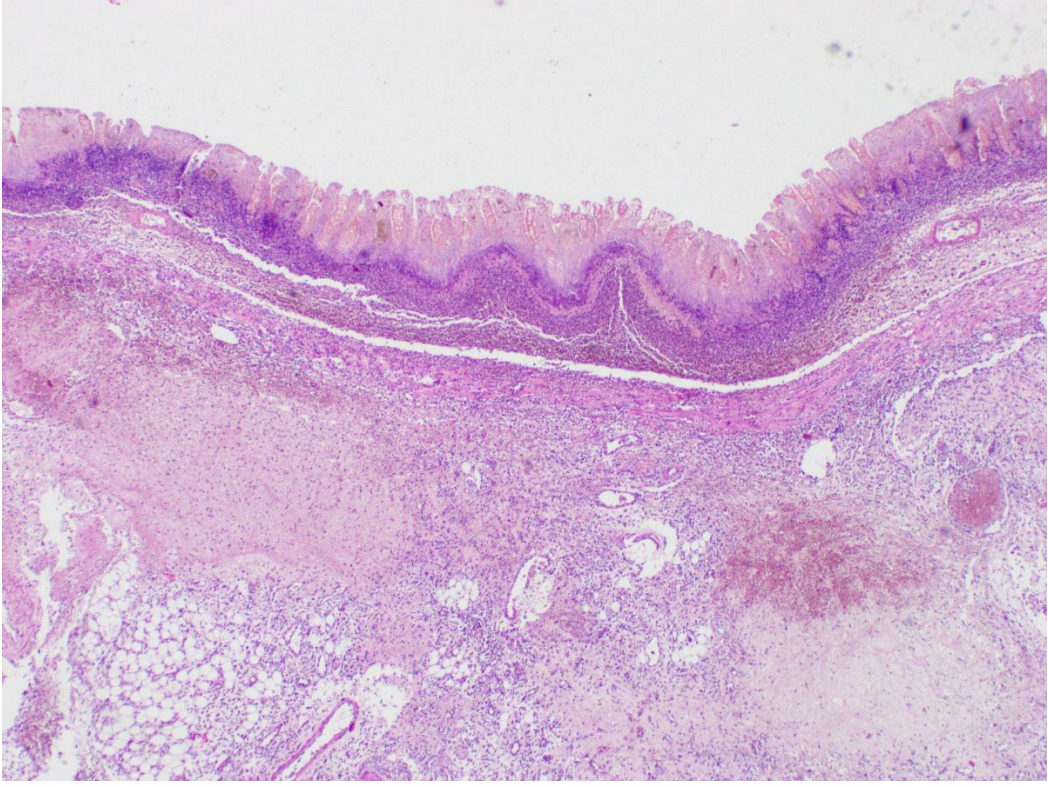
Resim 27. Sham grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)



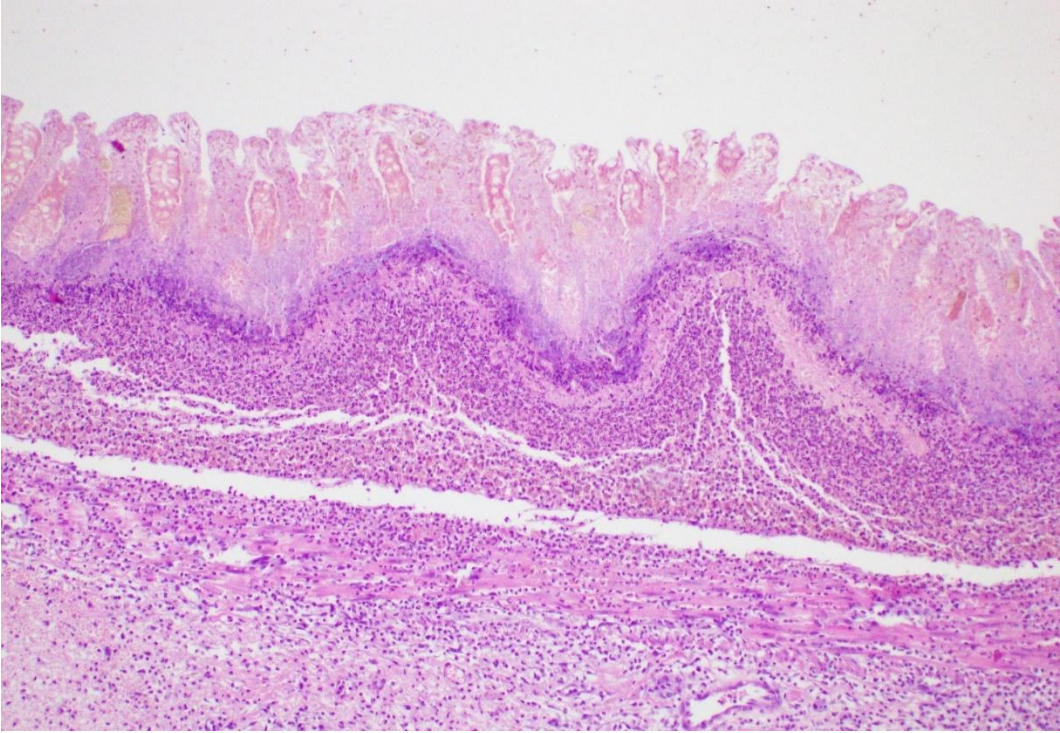
Resim 28. TNBS grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)



Resim 29. TNBS grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)



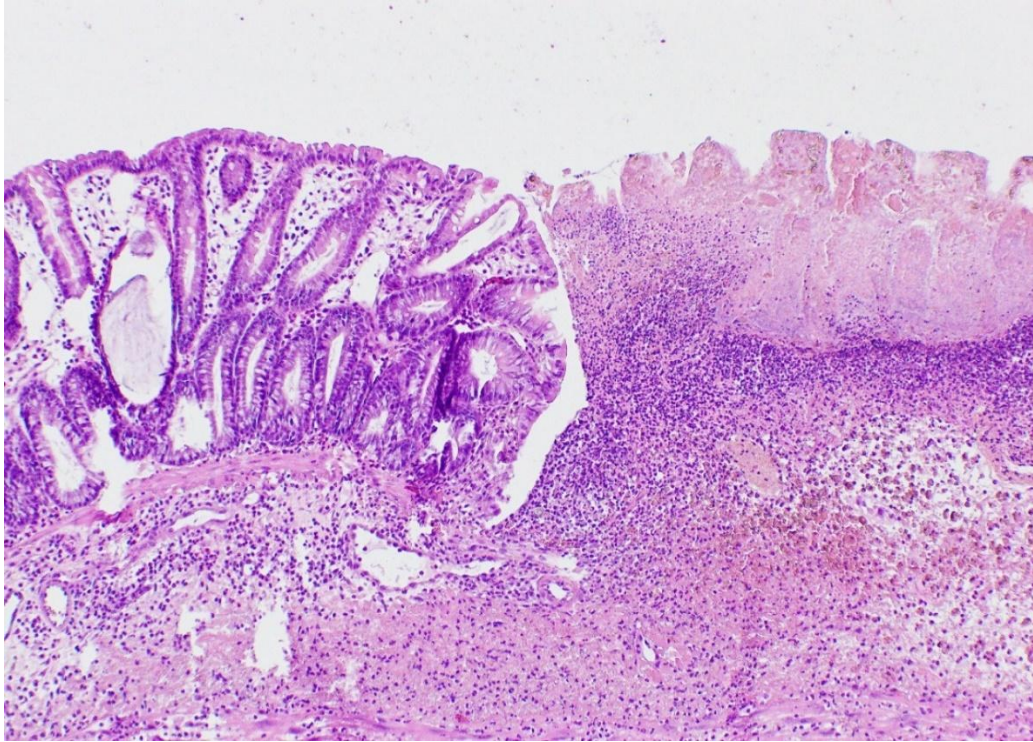
Resim 30. TNBS grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)



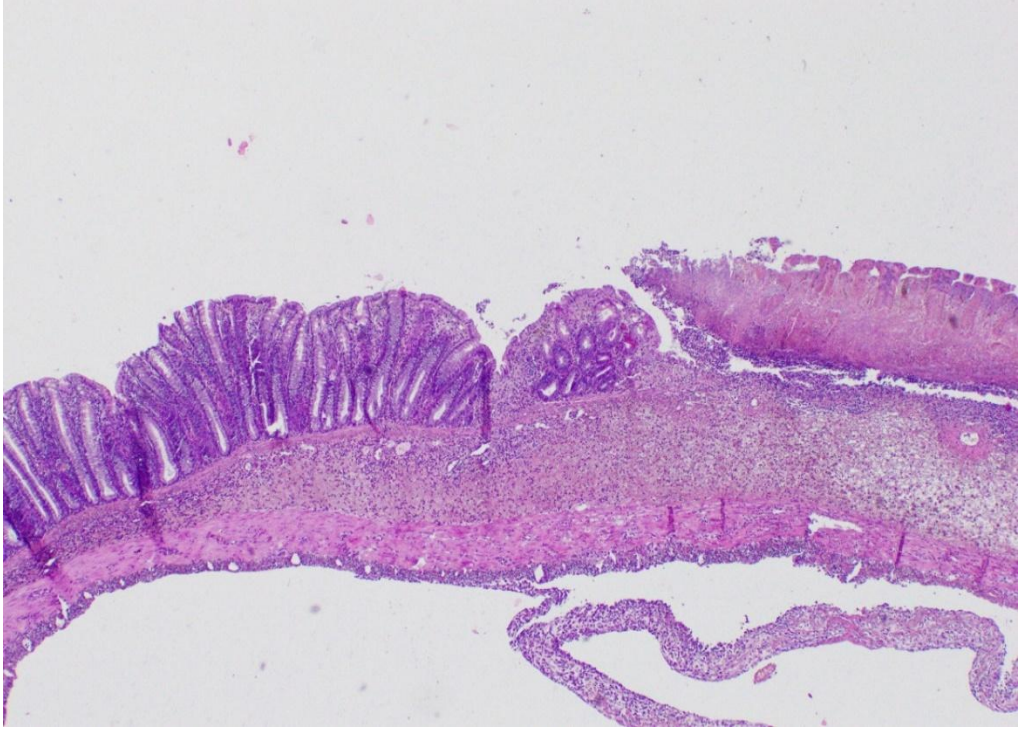
Resim 31. TNBS grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)



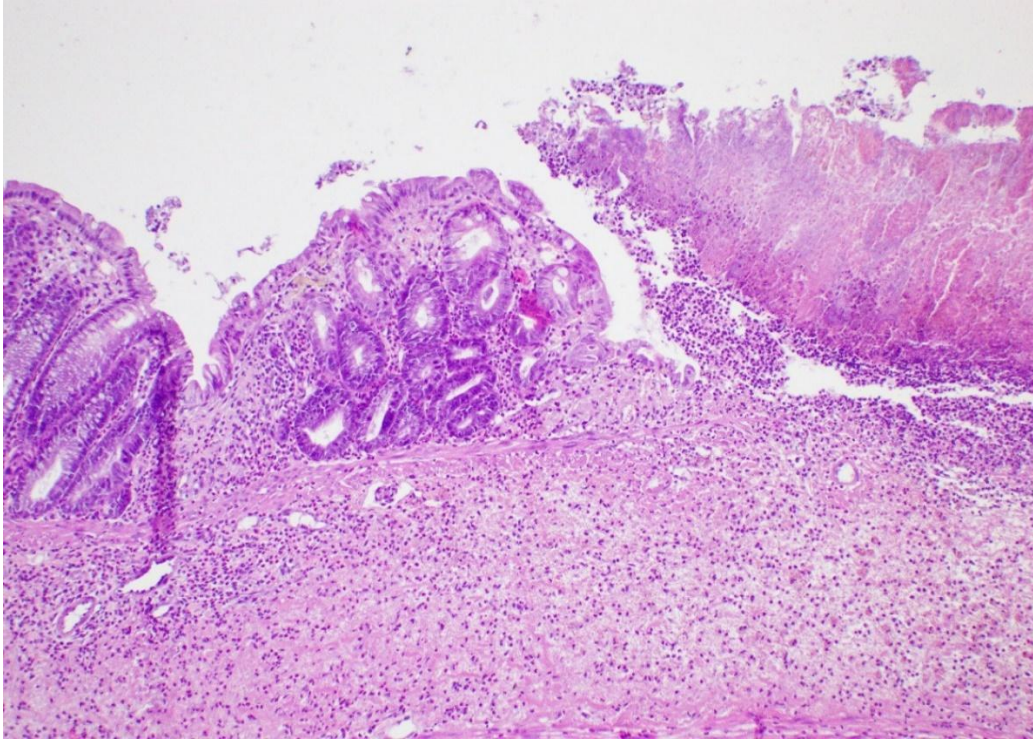
Resim 32. MSB10 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)



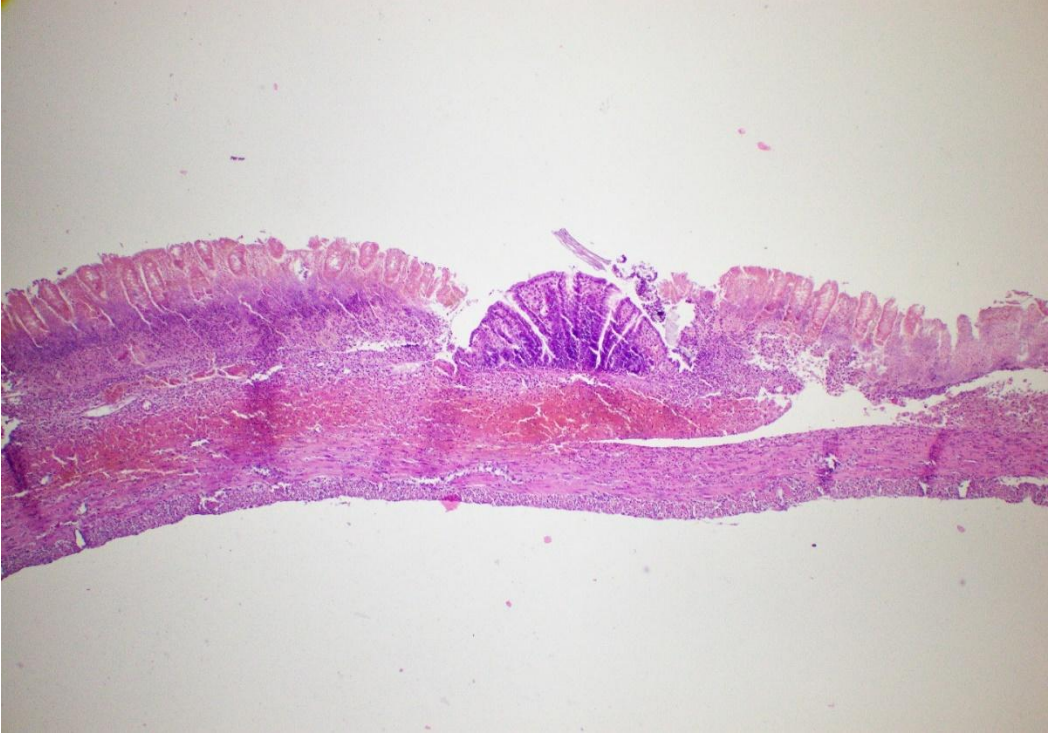
Resim 33. MSB10 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)



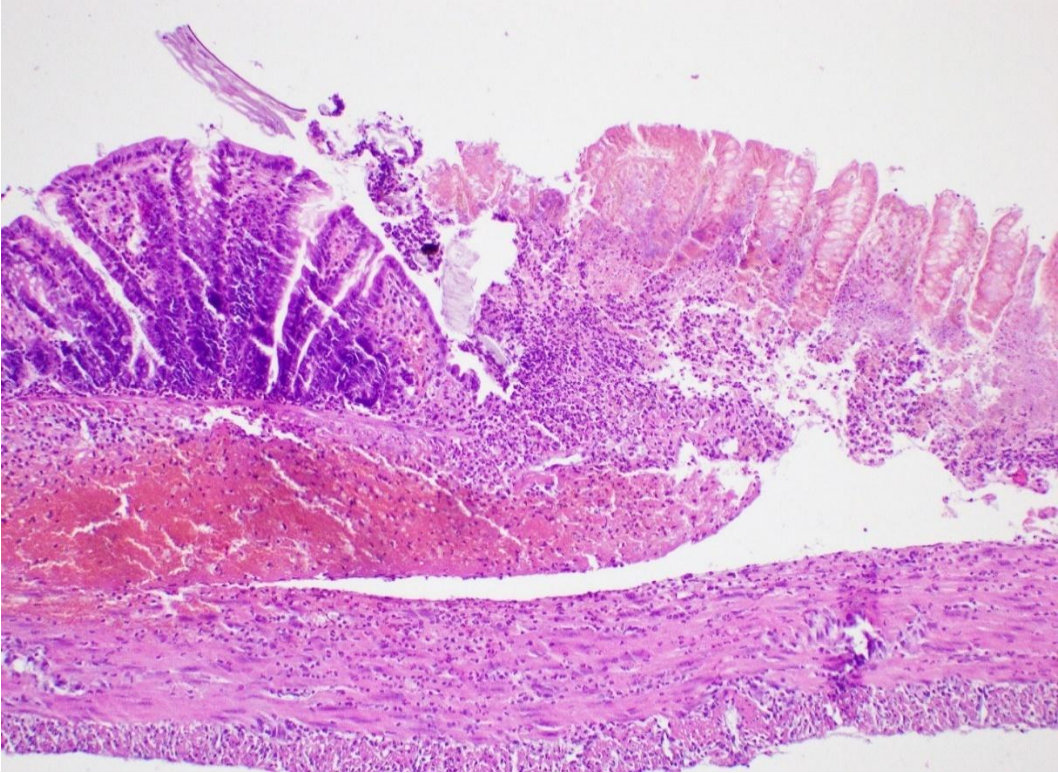
Resim 34. MSB10 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)



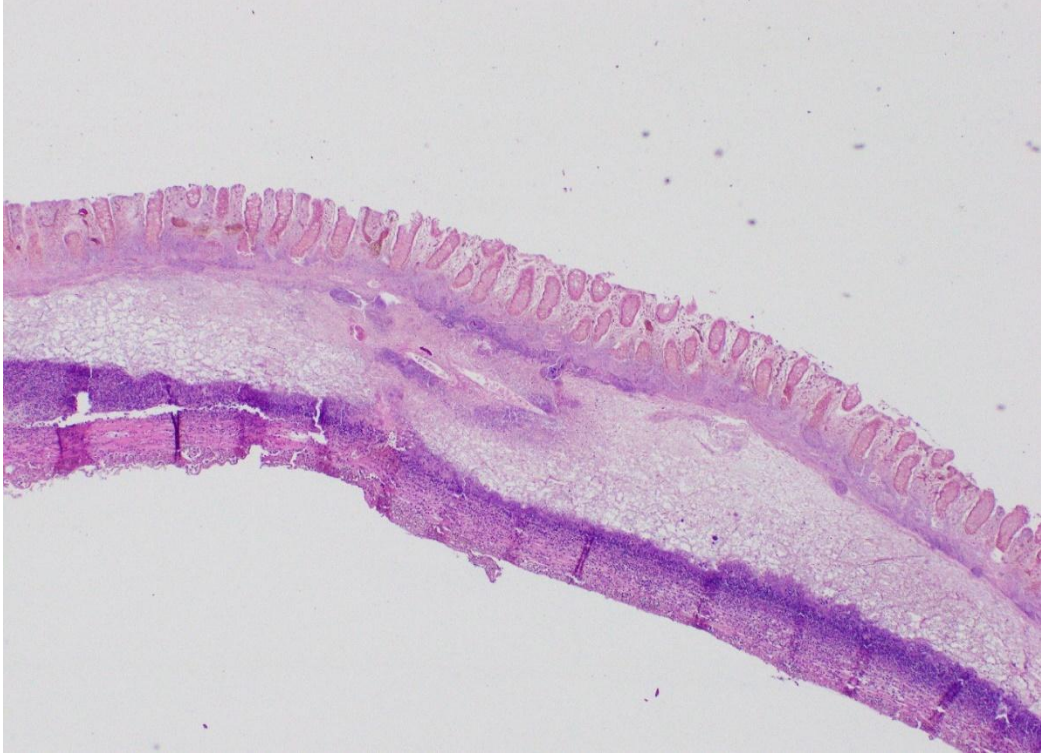
Resim 35. MSB10 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)



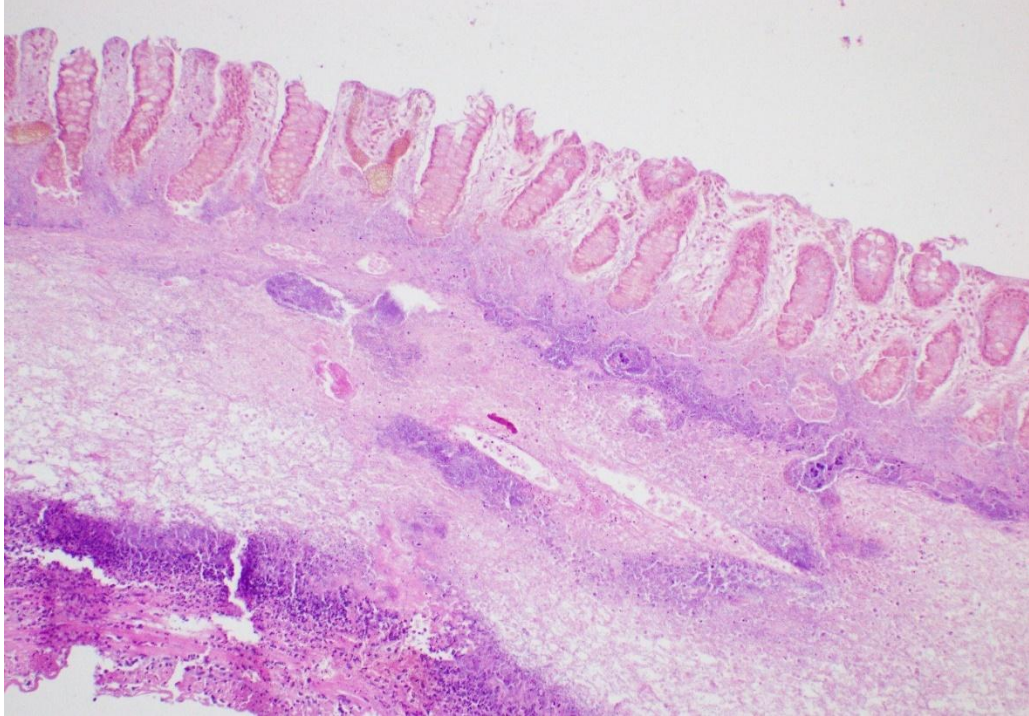
Resim 36. MSB4 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)



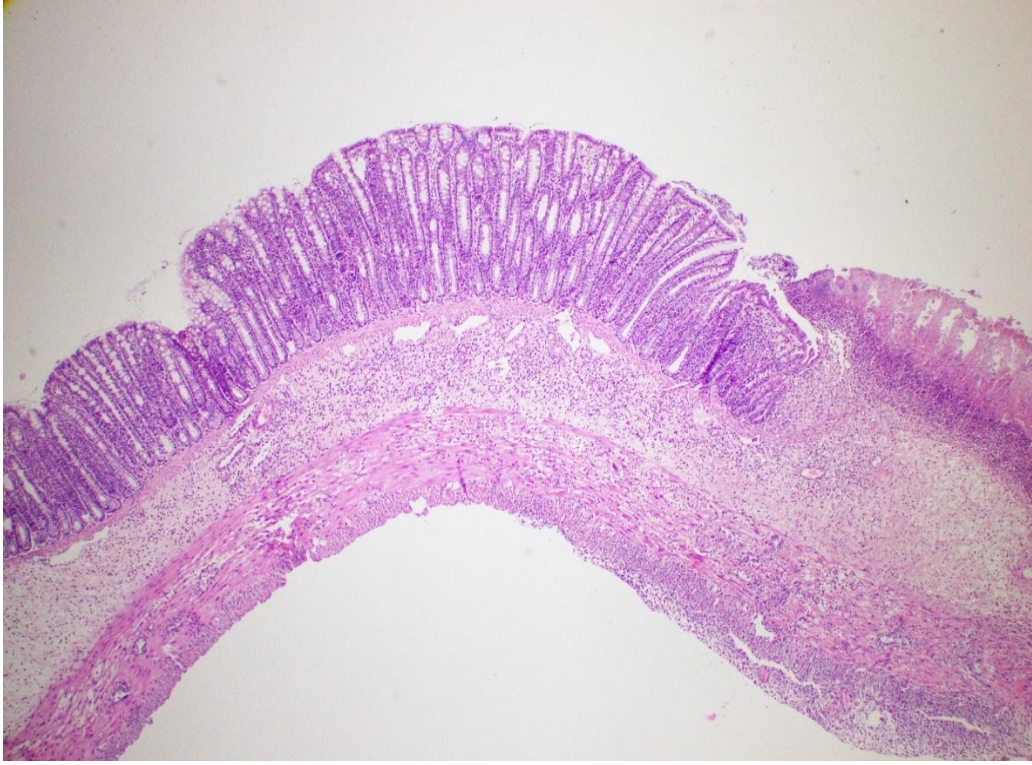
Resim 37. MSB4 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)



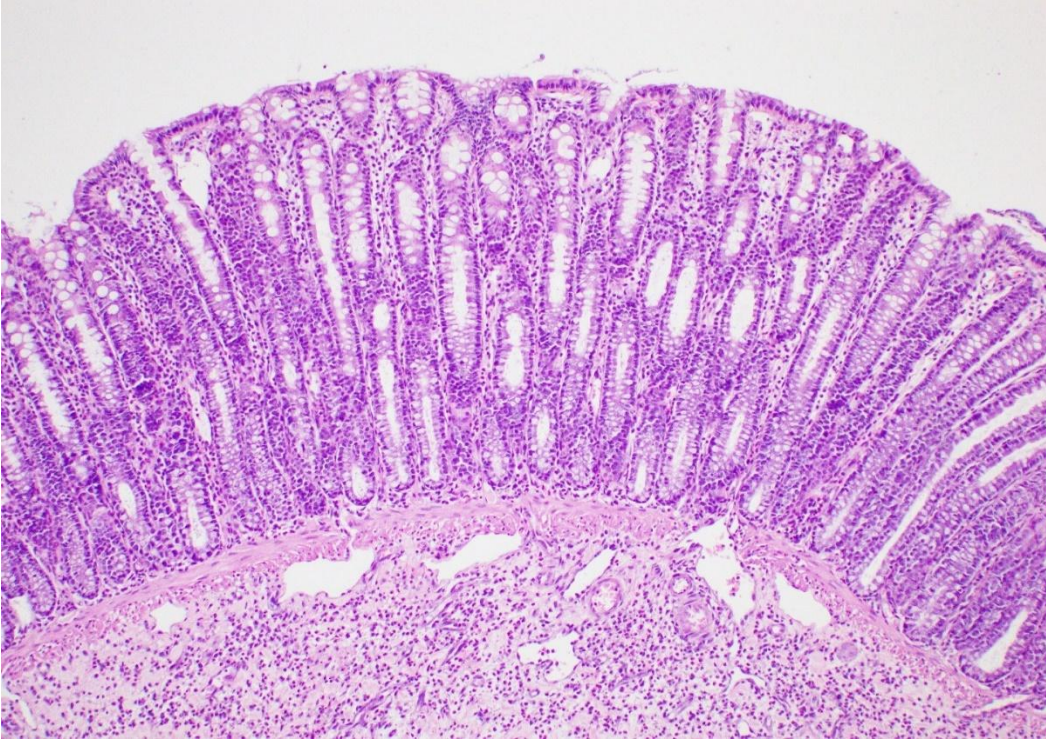
Resim 38. MSB4 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)



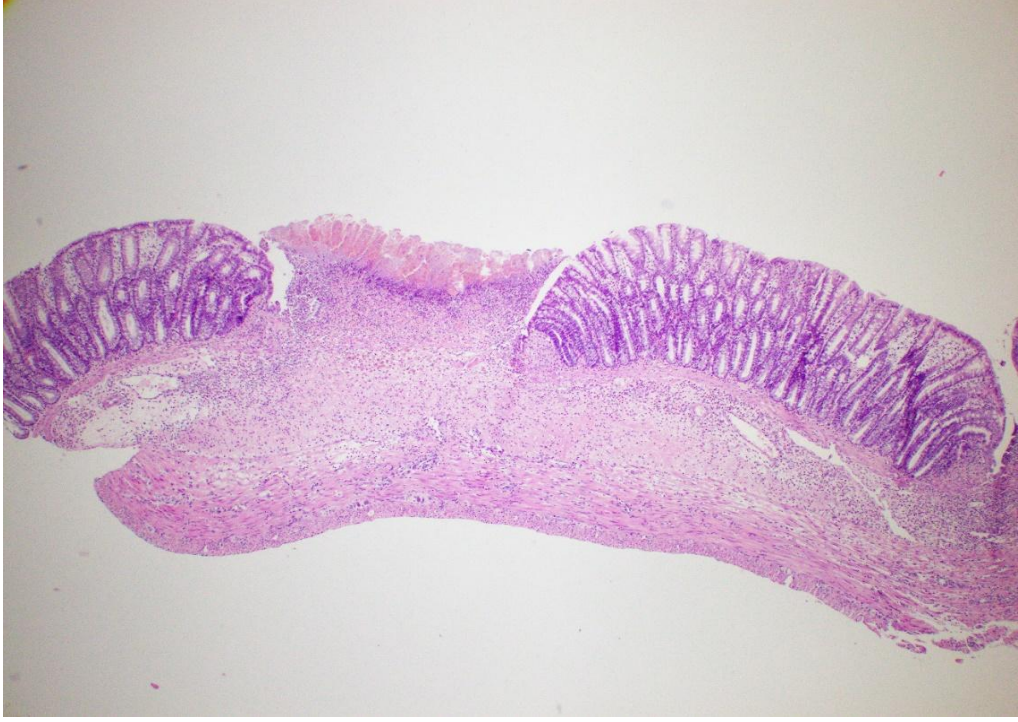
Resim 39. MSB4 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)



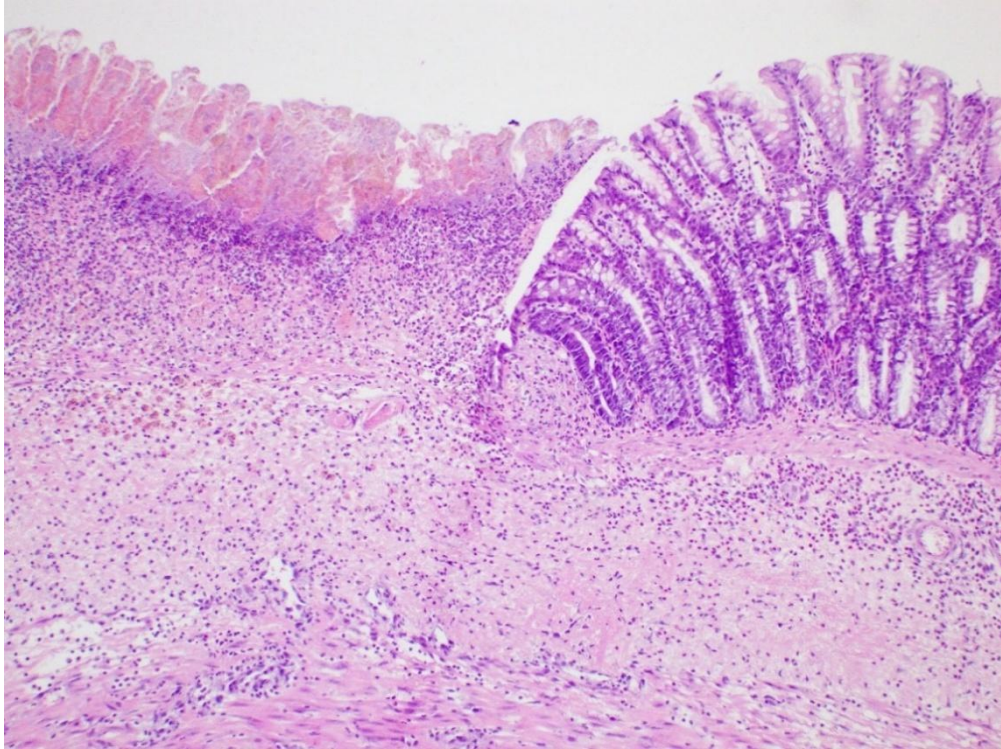
Resim 40. MSB4x3 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (1)



Resim 41. Resim 41. MSB4x3 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (1)



Resim 42. MSB4x3 grubu 40X büyütmesinde H&E boyama (2)



Resim 43. MSB4x3 grubu 100X büyütmesinde H&E boyama (2)

5. TARTIŞMA

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH); Crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK) dahil olmak üzere bağırsak kolon mukozasının kronik ve aralıklı iltihabı ile karakterizedir (Silva ve diğerleri, 2019). TNBS ile indüklenen kolit modeli, bağırsak iltihabını kolayca uyarılabilen, hızlı, güvenilir, sağlam ve yüksek oranda tekrarlanabilirliğe sahip bir hayvan modelidir (Modesto ve diğerleri, 2022). Menadion sodyum bisülfid K3 vitaminin suda çözünabilen sentetik bir analogudur ve provitamin olarak görev yapar (Tanaka ve diğerleri, 2010). Ayrıca menadionun yapısında bulunan kinon halkası ile elektron alıp vererek, ROS üretme yeteneği ile yüksek dozlarda prooksidan, düşük dozlarda antioksidan özellik gösterebileceği ve çeşitli farmakolojik etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir (Shertzer ve diğerleri, 1992; McAmis ve diğerleri, 2003). Bu etki Nrf2 yoluyla antioksidan enzimleri artırarak dolaylı antiinflamatuvar etkilere yol açabilen hormetik doz-tepki mekanizması ile açıklanmaktadır (Calabrese ve Kuzumbo, 2021). Menadionun temel olarak NF-kB inhibisyonu yoluyla antiinflamatuvar potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Checker ve diğerleri, 2011). Vücuda alındıktan sonra indirgenerek menadiolü dönüştürülür. K3 vitamininin indirgenmiş formlarının antioksidan aktiviteler gösterebileceği bildirilmiştir (Tampo ve Yonaha, 1996). Antiinflamatuvar etkilerinin koenzim aktivitelerinden bağımsız bir mekanizma ile gerçekleştiği gösterilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda TNBS ile oluşturduğumuz kolit modelinde 3. günde inflamasyonun hem lokal (kolonik doku) hem de sistemik (serum) düzeydeki yansımalarını daha önceki çalışmalarda bildirildiği şekliyle taklit eden bir kolit modeli oluşturulmuştur. Bu modelde TNBS ile oluşturulan kolit modelinde menadionun etkileri inflamasyonun immün yanıtları ve oksidatif bileşenleri üzerinden ele alınarak hem fizyolojik hem de histolojik analizler ile değerlendirilmiştir.

Çalışmalarda TNBS uygulamasından 2 saat sonra inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu gösterilmiş, tipik belirtilerin ise 48 saat sonra geliştiği bu nedenle, akut transmural hasarın 3 gün ila 1 hafta sonra maksimuma ulaştığı ve 2 hafta içinde de çözüldüğü veya kronik bir inflamasyona dönüştüğü bildirilmiştir (Silva ve diğerleri, 2019). Çalışmamızda kullanılan hayvanların büyüklükleri gözönüne alındığında 4 haftalıktan küçük hayvanlarda ölümle

sonuçlanma oranının yüksek olabileceği yaşlı sıçanlarda ise kolite hassasiyetin azalabileceği nedeniyle genç erişkin sıçanların kullanılması tercih edilmiş ve hayvanlarda ölüm olmadan deney başarıyla sonuçlandırılmıştır. İBH' de inflamasyonun hormonal bileşenleri olmadığından erkek ve dişi sıçanlar arasında fark bildirilmemiştir (Silva ve diğerleri, 2019). Çalışmamızda, kolit oluşturulan hayvanlarda piloereksiyon durumu literatür ile uyumlu olarak gözlenmiştir (Silva ve diğerleri, 2019). Antoniou ve diğerleri, 2016 ise farklı doz denemelerinin kolitin şiddeti üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir. 50 mg/kg ile düşük şiddette bir kolit izlenirken 150 mg/ kg ile yüksek şiddette bir kolit oluştuğunu gözlemlemişler ayrıca 100 ile 150 mg/ kg arasında fark olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda uyguladığımız 25 mg doz hayvan ağırlıkları göz önüne alındığında yaklaşık olarak 100 mg/kg'lık doza eşdeğer sayılabilir. Bu nedenle Wallace skoruna göre şiddetli bir kolit oluşturduğumuzu görmekteyiz. Çalışmamızda TNBS uygulanan hayvanların ilk gün ve son gün ağırlıklarında önemli düşüşler kaydedildi. MSB tedavimizin ise bu ağırlık kayıplarını azalttığı görüldü. Bu, daha önce yapılmış benzeri kolit çalışmalarında da bildirilmiştir (Sánchez-Hidalgo ve diğerleri, 2007). TNBS modelimizde başlıca proinflamatuvar belirteçler olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6, hem doku hem de serum örneklerinde analiz edilmiştir. Böylece TNBS ile indüklenen kolit modelinde lokal inflamatuvar yanıtın sistemik inflamatuvar yansıması arasındaki ilişki ortaya konmuştur.

TNF- α , hem doğuştan gelen bağışıklıkta hem de kazanılmış immün yanıtta önemli görevler üstlenen bir sitokindir. Özellikle akut inflamasyonda endotel hücrelerini aktive ederek adezyon moleküllerinin ve kemotaktik sitokinlerin üretimini uyarır, nötrofillerin ve makrofajların inflamasyon bölgesine göçünü sağlar. Aynı zamanda kaspazları aktive ederek apoptozu tetikler (Coşkun ve diğerleri, 2020). TNF- α , İBH'de biyolojik tedavinin önemli bir omurgasıdır (Neurath, 2014). Çalışmamızda TNBS modeliyle bu sürecin başarılı bir şekilde taklit edildiği gözlenmiştir. TNF- α ve IL-6 inflamatuvar bağırsak hastalıklarının patogenezinde merkezi rol oynayan başlıca pro-inflamatuvar sitokinlerdir. IL-6 ve IL-1 β kolondaki epitelyal hücre fonksiyonunu etkileyerek, epitelyal hücre ölümüne ve nötrofil agregasyonuna neden olur (Bai ve diğerleri, 2007). TNBS ile indüklenen kolit modeli de bu sitokinlerin aşırı ekspresyonunu taklit ederek insan hastalığını modellemekte sıkça kullanılmaktadır. TNBS ile indüklenen deneysel kolit modellerinde TNF- α ve IL-6 düzeylerinin artış gösterdiği pek çok çalışmada ortaya konmuştur. Araruna ve diğerleri, 2024, TNBS den 2 gün sonra dokuda TNF alfa artışını göstermiştir. Whittle ve diğerleri

2008, bizim çalışmamıza benzer şekilde 3. gün dokuda TNF- α ve IL-6 artışları ile inflamasyonun oluştuğunu göstermişlerdir. Yang ve diğerleri, 2016 ise 3. gün kolon dokusunda TNF- α , IL-6 ve IL-1 β artışları ile inflamasyonu göstermişlerdir. Çalışmamızda, TNBS uygulaması sonrasında TNF- α düzeylerinin hem kolon dokusunda ($p<0,01$) hem de serumda ($p<0,001$) anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. Bu dokuda başlayan inflamasyonun sistemik düzeyde de yansımalarının olduğunu göstermektedir. Bu bulgumuz, literatürdeki pek çok benzer çalışmayla örtüşmektedir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde Xu ve diğerleri, 2017 çalışmasında TNBS ile dokuda TNF alfa, IL-6 ve IL-1 β düzeylerinde artış göstermişlerdir. Zhu ve diğerleri, 2020' nin çalışmasında da TNBS ile kolon dokularında TNF- α ve IL-6, IL-1 β ekspresyonu artmıştır. Cury ve diğerleri, 2013'ün çalışmasında TNBS ile bizim çalışmamıza benzer şekilde 25 mg TNBS dozu ile kolit indüksiyonunun 3. gününde serum TNF- α ve IL-6 düzeylerinin önemli derecede yükseldiği gösterilmiştir. Bu artışın TNBS den 24 saat sonra önemli düzeyde artarak 12. güne kadar yüksek kaldığı ve bu sitokinlerin bağırsak mukozasının durumuna dayanarak inflamatuvar bağırsak hastalığının evreleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. TNF- α monosit ve makrofajlar tarafından üretilir. IL-6 ise hem dokuda hem serumda bulunan hem proinflamatuvar hem antiinflamatuvar bir sitokindir (Wang ve diğerleri, 2010). Alizade Naini ve diğerleri, 2021 de yine serumda TNF- α , ve IL-6 düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Rezaei ve diğerleri, 2018 ise asetik asit ile kolit modelinde de aynı şekilde serumda TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerinin arttığını göstermiştir. Kojima ve diğerleri, (2024) çalışmasında benzer şekilde TNBS sonrası IL-1 β mRNA ekspresyonu artmış, bu artışın Th17 hücreleri ve IFN- γ üretimi ile birlikte seyrettiği belirtilmiştir. Li ve diğerleri, (2018) çalışması da IL-1 β 'nin COX-2 ve TNF ile birlikte inflamatuvar süreci yöneten temel düzenleyici olduğunu ifade etmiş, bu moleküllerin transkripsiyonel olarak birlikte yükseldiğini göstermiştir. Bizim çalışmamızda da TNBS ile dokuda TNF- α ($p<0,01$), IL-6 ($p<0,001$) ve IL-1 β ($p<0,01$) artışları anlamlı düzeyde bulunmuş serumda TNF- α ($p<0,001$) ve IL-6 ($p<0,01$) anlamlı düzeye ulaşırken; serum IL-1 β düzeyleri ise kolit olmayan gruba göre matematiksel olarak diğer parametrelerin artışı ile paralel, önemli bir sayısal fark ile yükselmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$). Fakat MSB uygulanan tedavi gruplarında diğer tüm parametrelerin paralelinde serumda da yükselen IL-1 β düzeylerini baskılayabildiğini hatta tedavi gruplarından bazılarında IL-1 β düzeylerinin sağlıklı hayvanlardan daha düşük olduğu gözlenmiştir. Yang ve diğerleri, (2016), TNBS sonrası kolonik dokuda ve serumda IL-1 β

düzeylerinin arttığını, bu artışın tedaviyle azaldığını ve NF- κ B yolunun inhibisyonu ile ilişkilendirildiğini göstermiştir. Luo ve diğerleri, (2017) çalışmasında da TNBS grubunda IL-1 β mRNA düzeyleri anlamlı şekilde arttığı vurgulanmıştır. Zhu ve diğerleri, (2020) tarafından yapılan çalışmada, TNBS sonrası serumda IL-1 β üretimi artışı bildirmişlerdir. Xu ve diğerleri, (2017) tarafından TNBS uygulamasını takiben hem IL-1 β hem de TNF- α ve IL-6 düzeyleri artmış, bu durum nörofillerin infiltrasyonu ve MPO aktivitesiyle ilişkilendirilmiştir. Tüm bu veriler, çalışmamızda TNBS uygulaması ile dokuda diğer parametreler ile uyumlu IL-1 β düzeylerini belirgin şekilde artırmasının inflamatuvar sürecin erken göstergesi olarak kabul edilebileceğini göstermektedir. Ayrıca IL-1 β düzeylerinin TNF- α , MPO ve IL-6 gibi diğer parametrelerle birlikte hareket etmesi, bu sitokinin inflamasyonun merkezindeki konumunu pekiştirmektedir.

MSB'nin saf menadiona göre daha düşük toksisite riskinin bildirilmiş olması ve suda çözünbilme yeteneği ile uygulama dozu ve yönteminin daha standardize edilebilir olması deneyimizde TNBS kolit modelinde kullanmak üzere MSB'yi çekici hale getirmiştir. MSB uygulaması ile kolon dokusunda (tüm gruplarda $p < 0,01$) ve serumda (tüm gruplarda $p < 0,001$) artan sitokinlerin bastırılmış olması MSB'nin lokal ve sistemik düzeyde antiinflamatuvar etkiler gösterdiğini doğrulamaktadır. Çeşitli hayvan deneylerinde tedavide uygulanan menadion dozları literatürde çeşitlilik göstermektedir. Şimdiye kadar edindiğimiz bilgiler bu etkinin NF- κ B'nin inhibisyonu yoluyla gerçekleşebileceğini göstermektedir. Örnek çalışmalarda Cerulein kaynaklı pankreatit modelinde menadionun 10 mg/ kg dozunda i.p. verilmesi ise NF- κ B ve IL-1 β inhibisyonu gözlemlemişlerdir (Amiti ve diğerleri, 2019). Aynı zamanda menadion, pankreas ve akciğerde nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan MPO seviyelerini de düşürmüştür. Bu çalışmada menadion dozları, 10, 25, 50, 100 mg/kg uygulandığında 10 mg/kg dışındaki tüm dozların öldürücü olduğu gözlenmiştir (Amiti ve diğerleri, 2019). Bizim çalışmamızda ölüm riskini en az seviyede tutacak güvenli doz aralıkları belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmamızda 10 mg/kg yüksek doz olarak belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada da monosodyum ürat ile oluşturulan peritonit modelinde 30 dakika önce 4 mg/kg dozunda i.p. uygulanan MSB, IL-1 β üretimi ve nötrofil infiltrasyonunu azaltmıştır (Zheng ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda güvenli doz aralıklarında düşük doz grubunda uyguladığımız 4 mg/kg'lık doz bu çalışmaya göre belirlenmiştir. Ayrıca in vitro çalışmalarda menadion, LPS uygulanan fare makrofajlarında TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerini anlamlı şekilde baskılamıştır (Checker ve diğerleri, 2011).

Bu immünoşupresif etkiler bizim in vivo çalışmamızdaki bulgularla örtüşmektedir. Diğer bir LPS kaynaklı ARDS modelinde 100 mg/kg'lık vitamin K3 uygulaması 1 saat sonra serum TNF- α seviyelerini önemli ölçüde baskılamış ve 6 saat sonra doku hasarını azaltmıştır (Tanaka ve diğerleri, 2010). Bu çalışma bizim hem dokuda hem serumda artan TNF- α düzeylerinin MSB tarafından baskılanması ile uyumludur. Ayrıca DSS kolit modelinde de 8. günden itibaren 4 gün boyunca 20 mg/kg olarak oral gavaj ile uygulanan menadion TNF- α mRNA seviyelerini ve kolon hasarını gösteren inflamatuvar skorları azaltmıştır (Aoganghua ve diğerleri, 2011). Bu, patogenezi tetikleyen farklı bir mekanizma olsa da benzer kolit modellerinde bağırsak dokusundaki olası antiinflamatuvar etkisini desteklemektedir. Ayrıca menadionun antiinflamatuvar etkilerinin K vitamininin koenzim aktivitesinden bağımsız olarak NLRP3 inflamatuvarını inhibe ederek gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2021). Bu MSB'nin kolit üzerindeki antiinflamatuvar etkilerinin muhtemel bir mekanizması olabilir. Bizim çalışmamızda artan TNF- α seviyelerinin MSB ile düşürülmesi, MSB'nin benzer modellerdeki etkisini göstermek açısından önemli veriler ortaya koymuş, üstelik çalışmamız TNBS kolitindeki çok yönlü mekanizmaları daha fazla parametre ile inceleyerek ileriki moleküler çalışmalara zemin hazırlamıştır.

PGE₂, inflamatuvar süreçlerde önemli bir rol oynayan eikosanoid olup, sitokinler ve inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak COX-2 enziminin indüklenmesiyle sentezlenir. İnflamasyon sırasında çeşitli immün hücrelerden salınan PGE₂, damar geçirgenliğini artırarak ödem oluşumunu destekler, inflamatuvar hücrelerin göçünü kolaylaştırır ve inflamasyonu pekiştirir (Dong ve diğerleri, 2003). Ülseratif kolitli hastalarda PGE₂ düzeyleri hem mukozal dokuda hem de plazmada yüksek bulunmuş ve bunun endoskopik skorlar ile kolerasyon gösterdiği ve kolon hasarı derecesi ile eş zamanlı yükseldiği gösterilmiştir (Wiercińska–Drapało ve diğerleri, 1999). Prostaglandinlerin inflamatuvar ödem ve hiperemiye katkıda bulunduğu gösterilmiştir. TNBS modelindeki PGE₂ artışları COX-2 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir ve bu artışın sistemik değil daha ziyade yerel bir yanıt olarak lökosit infiltrasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Kankuri ve diğerleri, 2001). İnflamasyonda TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler iltihaplı bölgede salınır ve COX-2 ekspresyonunu arttırırlar (Rabelo Socca ve diğerleri, 2014). TNBS modelinde dokuda COX-2 çok üretilirken COX-1 daha siliktir (Sánchez-Hidalgo ve diğerleri, 2007; Rabelo Socca ve diğerleri, 2014). Nitekim bazı çalışmalarda, COX-2 inhibitörlerinin paradoksal olarak inflamasyonu şiddetlendirebildiği ve epitel onarımını geciktirebildiği

bildirilmiştir (Tanaka ve diğerleri, 2009). Kolit Tedavisinde kullanılan ajanların etki mekanizmaları farklıdır. NSAID' ler COX-2 inhibitörü olarak PGE₂ yi azaltırken, glukokortikoidler ise endotelial yapışma moleküllerinin ifadesini engelleyerek iltihaplı dokuya infiltrasyonu azaltırlar. Ancak PGE₂'nin inflamasyonun geç evrelerinde antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında yüksek seçici COX-2 inhibitörlerinin PGE₂ üretimini azaltarak infiltrasyon ve ödem oluşumunu azaltarak inflamatuvar hasarı azalttığı gösterilmiştir (Kankuri ve diğerleri, 2001). Düşük PGE₂'nin rejenerasyon için gerekli olduğunu fakat aşırı yüksek PGE₂'nin doku hasarını arttırdığı gösterilmiştir (Sheibanie ve diğerleri, 2007). Düşük ve orta düzey yapısal ve indüklenabilir PGE₂ üretimi bikarbonat ve mukus salgılanması, mukozal kan akışının arttırılması, epitel rejenerasyonu ve apoptozun azaltılması yoluyla mukozal koruma ve onarım sağlamaktadır (Ancha ve diğerleri, 2009). Bunun yanında TNBS modelinde COX2 aracılı PGE₂' nin kontrol düzeylerine düşürülmesi deney hayvanlarında koliti önemli ölçüde iyileştirmiştir (Ancha ve diğerleri, 2009). Çalışmamızda TNBS ile kolit grubunda dokuda PGE₂ düzeyleri yüksek anlamlılık ile artmıştır ($p<0,001$) ve MSB uygulanan gruplarda kolon dokusunda PGE₂ düzeylerinde üç tedavi dozunda da yüksek anlamlılık seviyelerinde düşüş gözlenmiştir ($p<0,001$). Ancak bu düşüşün kolit oluşturulmayan hayvanlardakine benzer fizyolojik sınırlar içinde kaldığı değerlendirilmiştir. Bu durum, MSB'nin COX-2 üzerinden gerçekleşen prostaglandin üretimini tamamen baskılamak yerine, düzenleyici bir etkiyle aşırı prostanoid üretimini sınırlamış olabileceğini, ancak mukozal koruma için gerekli olan düzeyleri korumuş olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim TNBS ile artan doku hasarının MSB ile azaldığı görülmektedir. Böylece MSB'nin, klasik COX-2 inhibitörlerinin sebep olabileceği olumsuzlukları elemine ederek daha dengeli bir antiinflamatuvar etki sağladığı, doku hasarındaki iyileşmeyi yansıtan histopatolojik parametreler ile de uyumlu bulunmasından anlaşılmaktadır. Serum PGE₂ düzeyleri ise TNBS modelinde 3. gün anlamlı düzeyde değildi ($p>0,05$). Bu PGE₂ üretiminin yerel bir yanıt olarak dokuda arttığını ve sistemik düzeye yansımadığını göstermiştir. MSB4x3 tedavi grubunda yine de TNBS grubuna göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Bunun nedeni PGE₂'nin yerel bir faktör olarak salgılanması dolaşıma geçen miktarının ise düşük olması ve kısa yarı ömrü nedeniyle hızlıca metabolitlerine ayrışmasından kaynaklanabilir. Yine serum PGE₂ düzeylerinde 3 gün boyunca 4 mg/kg MSB verilen grupta muhtemelen PGE₂ devamlı üretiminin baskılanmasına bağlı olarak PGE₂ düzeyleri kolit olmayan hayvanların seviyesinden daha

düşük seviyelere inmiştir. Fakat bu düşüşün PGE₂' nin dokudaki koruma etkisini azaltmadığı doku hasarı parametreleri ile gösterilmiştir. Aslında fare fibroblast hücre hatlarında yapılan deneylerde kinon yapısı içeren bileşiklerin COX inhibitörü olarak etki ettikleri fakat menadionun COX-1 ve COX-2 inhibisyonu açısından anlamlı bir etkiye sahip olmadığı gösterilmiş, bunun da kinon yapısının aşırı inhibisyonunu engelleyen metil yapısından kaynaklandığı bildirilmiştir (Landa ve diğerleri, 2012). Fakat bizim çalışmamızda gözlemlediğimiz dokudaki PGE₂ baskılayıcı özelliği MSB' nin belki de iyileşme için sadece gerekli düzeyde COX-2 inhibitör potansiyeli ile aşırı inhibisyonu engellediği, dokudaki PGE₂ seviyelerinin fizyolojik sınırlarının altına düşürmediği, antioksidatif cevabın uyarılması ve oksidatif parametrelerin de tedaviyle düşürülmesi yoluyla dolaylı olarak NF- κ B inhibisyonundan kaynaklanabilecek dokudaki diğer parametreleri iyileştirebildiğini olası bu yolların antioksidatif bir etkiyle baskılandığını düşündürebilir. Bu yönüyle bu çalışma, benzer modellerde PGE₂ ve COX-2 eş zamanlı analizleri ile bu belirteçlerin moleküler yollarının detaylı çalışılmasına bir zemin oluşturabilir.

MPO, nötrofillerde bulunan granülosit lizozomlarına özgü bir enzimdir ve aktivitesi, nötrofillerin inflamasyon dokusuna girmesiyle doğrusal olarak ilişkilidir ve nötrofil infiltrasyonunun biyokimyasal belirteci olarak kullanılır (Luo ve diğerleri, 2017; Zhang ve diğerleri, 2017). TNBS uygulanan farelerde, intestinal MPO aktivitesinde önemli bir artış gösterilmiştir (Luo ve diğerleri, 2017). Başka bir çalışmada TNBS kaynaklı kolit modelinde 11 gün sonra bile kolon dokularında MPO düzeylerinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Bu artışa nötrofil infiltrasyonu ve doku hasarı ile eş zamanlı PGE₂ artışı da eşlik etmiştir (Ancha ve diğerleri, 2009). TNBS ile yapılan başka bir çalışmada, kolon dokusunda TNF- α , IL-1 β , PGE₂, MPO, içeriklerinde önemli ölçüde artış gösterilmiştir (Shen ve diğerleri, 2019). Sheibanie ve diğerleri, 2007 ise TNBS modeli çalışmasında TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi sitokinlerle eş zamanlı olarak MPO düzeylerinin arttığını gösteren bulgular sunmuştur. Qiu ve diğerleri, 2017 ise TNBS ile doku MPO artışlarını T lenfosit ve nötrofil infiltrasyonundaki artış ile ilişkilendirmiştir. Birçok çalışma TNBS uygulaması ile kolon dokusunda MPO düzeylerinde artış bildirmiş ve bunu doku hasarının şiddeti ile yakından ilişkilendirmişlerdir (Alizade Naini ve diğerleri, 2021; Albaguergue ve diğerleri, 2021; Almási ve diğerleri, 2023). Aynı şekilde Whittle ve diğerleri, 2008 ise dokudaki nötrofil infiltrasyon indeksi ile MPO düzeylerinin kolerasyonunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda benzer şekilde kolon dokusunda MPO düzeyleri anlamlı bir şekilde yüksek

bulunurken histopatolojik parametrelerin de infiltrasyon bulgularımız ile eş zamanlı arttığını kaydettik. Ayrıca yerel olarak gözlenen MPO' nun dokuyla eş zamanlı serumda da anlamlı düzeylerde yüksek olması yerel MPO'nun yüksek düzeyde üretildiği ve sistemik dolaşıma uzaklaştırılmadan inflamasyonun şiddetini açıkça yansıtan zirve düzeylere yakın optimum bir zaman noktasında deneyi sonlandırdığımızı göstermektedir. Çünkü çalışmalar TNBS modelinde inflamasyonun 3. günde zirveye ulaştığını (Antoniou ve diğerleri, 2016), bazı çalışmalar ise 7. gün yapısal hasarın ve MPO seviyelerinin zirvede olduğunu fakat 3. günde zirveye en yakın seviyelere ulaştığını bildirmişlerdir (Wang ve diğerleri, 2010). MSB tedavimiz lokal ve sistemik düzeyde artan MPO seviyelerini anlamlı derecede düşürmüştür. En etkili grup MSB4x3 olmuştur ($p<0,001$). MSB' nin bu etkisinde olası neden daha önce de açıklandığı üzere NF- κ B inhibisyonu yoluyla antiinflamatuvar etkilerin düşük miktarda üretilen ROS ile bu yolların inhibisyonu olabilir. Çalışmamızda antioksidan savunmanın artması oksidatif parametrelerin iyileştirilmesi infiltrasyon sonucu inflamasyona sekonder katkıda bulunan oksidatif stresi azaltan bir antioksidan olarak davranmasının yanı sıra, hücre göçünü azaltan sitokin baskılayıcı mekanizmaları da aktif hale getirdiğini göstermektedir. Amity ve diğerleri 2019, Cerulein kaynaklı akut pankreatit çalışmasında menadionun pankreas ve akciğerde artmış olan ve infiltrasyonun göstergesi olan MPO düzeylerini azalttığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda artan MPO seviyelerinin MSB tarafından baskılanması granülositler üzerindeki immünosupresif etkisini göstermektedir. Aynı zamanda TNBS kolit modellerinde artan MPO düzeyleri, inflamasyona eşlik eden oksidatif stresinde bir göstergesi olarak yorumlanmaktadır (Araruna ve diğerleri, 2024). İnflamatuvar ve immün hücreler tarafından artırılmış veya abartılmış bir ROS üretimi bir savunma mekanizmasıdır (Chatterjee, 2016). Birçok çalışma TNBS modelinde bağışıklık hücrelerin ve granülositlerin aktivasyonu ile artan ROS seviyelerini ve zayıflayan antioksidan savunmayı göstermişlerdir. TNBS modelinde inflamatuvar zinciri başlatan ana mekanizma ROS olmamak ile birlikte asıl uyarı Th1 ve Th2 hücreleri aracılığıyla başlayan immün yanıt üzerindendir. Fakat savunma hücreleri kaynaklı ROS üretim mekanizmaları ikincil olarak oksidatif hasarın da doku hasarına katkıda bulunduğunu göstermektedir. İnflamasyon sırasında ROS, I κ B proteinlerinin modifikasyonu ile bozunmasına yol açar, böylece NF- κ B serbest kalarak çekirdeğe taşınabilir ve inflamatuvar proteinleri ifade eden genlerin ekspresyonunu indükler. Nükleer faktör 2 (Nrf-2) gibi faktörlerin de ROS düzenlemesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Chatterjee, 2016). Bağırsak mukozasında

oksidatif stres, epitel hücrelerin apoptozuna ve bariyer bütünlüğünün bozulmasına neden olur (Karp ve Koch, 2006). DNA oksidasyonu da inflamasyonun patofizyolojisinde önemlidir. Hem insan hem hayvan modellerinde oksidatif DNA hasarı belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir ve belirteç olarak kullanılmıştır (Pereira ve diğerleri., 2015; Rezaie ve diğerleri, 2007). Bai ve diğerleri, 2019 çalışmasında TNBS kolitinde de 3. gün 8-OHdG düzeylerinin arttığını göstermiştir. Kolondaki lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyleri test edilir (Kazi ve Qian, 2009). Deneysel kolit modellerinde oksidatif stresin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Örneğin Rezaei ve diğerleri, 2018, çalışmasında asetik asit kaynaklı kolit modelinde TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi sitokinlerin artışıyla birlikte MPO ve PGE₂ artışlarını da bildirmişler ve burada kolite eşlik eden oksidatif stresin varlığını kolon dokusunda artan MDA ve NO içerikleri ile sistemik düzeydeki antioksidatif zayıflamayı da serumda GSH, GPx, SOD ve TAS düzeylerini ölçerek göstermişlerdir. Bu ve benzeri insan ve deneysel İBH modellerinde oksidatif ve nitrozatif stresin epitel hasarının başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulundukları düşünülmektedir. Hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve NO türevi peroksinitrit gibi reaktif türler, kısmen nötrofil ve makrofaj aktivasyonu ile üretilir ve kolon dokusunda oksidatif hasara neden olurlar (Ancha ve diğerleri, 2009). Araruna ve diğerleri (2024) ise TNBS sonrası 2. gün dokuda MDA düzeylerinin arttığını GSH ve SOD azalmasıyla paralel doku hasarını da göstermişlerdir. Alizade Naini ve diğerleri, 2021 de dokuda MDA artışı ile SOD azalmasını bildirmişlerdir. Shen ve diğerleri (2019)'un çalışmasında, kolit modelinde sitokin artışlarının yanında SOD, CAT ve GSH-Px düzeylerinde azalma, MDA düzeyinde ise artış gibi oksidatif parametreler tespit edilmiştir. İnsan kolonu yapısal olarak sadece az miktarda SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimlere sahiptir. Bu nedenle oksidatif strese karşı duyarlıdır (Nieto ve diğerleri, 2000). GSH-Px'in kolon dokularında oksidatif strese yanıtı değişkendir. Nieto ve diğerleri, 2000 çalışmasında TNBS sonrası 1. hafta da SOD azalırken GPx düzeylerinde sürekli süperoksit radikali oluşumuna bağlı olarak artma gözlemişlerdir ve bu artışı GSH düzeylerindeki düşüşe ile ilişkilendirmişlerdir. Rabelo Socca ve diğerleri, (2014), aynı şekilde TNBS sonrası 3. gün GPx ile GR düzeylerinin attığını bildirmişlerdir. Dost ve diğerleri (2009)' un çalışmasında da kolon dokusunda CAT' ın azaldığını ve MPO düzeyleri ile birlikte, GSH-Px düzeylerinin arttığı GR (Glutasyon redüktaz) düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir. Bunu muhtemelen artan GSH içeriği ile

ilişkilendirmişlerdir. Bunlar bizim çalışmamızda 3. gün izlediğimiz GPx düşüşü ile ilişkilendirilmiştir. Bizim GPx düşüklüğümüz muhtemelen TNBS ile tükenen GSH içeriğinden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda azalan SOD miktarları da aşırı süperoksit üretiminde SOD'un aşırı kullanılmasına bağlı olabileceği gibi enzimin yapısal hasarından da kaynaklanabilir. MSB tedavimiz muhtemelen hormetik etki ile düşük dozda SOD ve GSH-Px gibi antioksidan enzimleri yukarı aktive etmiş olabilir. Buna bağlı artan H₂O₂' in suya dönüştürülerek temizlenmesi için azalan GSH-Px düzeylerinin MSB ile artması muhtemelen MSB'nin düşük dozlarda redoks döngüsünü düzenlediğini ve GSH'a direk bağlanarak onu tüketmek yerine antioksidatif yanıtı pekiştirdiğini göstermektedir. Bu enzimlerin mevcut GSH rezervi ile eş zamanlı ölçülmesi ile bu mekanizma aydınlatılabilir. Kolit modellerinde TAS düzeylerinin azaldığı ve TOS düzeylerinin arttığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Erdem ve diğerleri, 2024). TNBS ile indüklenen kolit modelinde 3. gün TAS düzeylerinin azaldığı, TOS düzeylerinin arttığı ve buna bağlı oksidatif stres indeksi olan OSI değerlerinin arttığı gösterilmiştir (Demir ve diğerleri 2025). Peroksinitrit ve hidroksil radikali DNA'nın guanin bazına zarar vererek 8-OHdGyi oluşturur ve oksidatif stresin bir belirtecidir. Asetik asitle oluşturulmuş kolit modelinde 8OHdG'nin arttığını göstermişlerdir. Bu oksidatif stresin DNA üzerindeki hasarını yansıtmaktadır (Mercaldi ve diğerleri, 2017). Bizim çalışmamızda MSB, oksidatif stresi azaltarak MDA ve 8-OHdG düzeylerini düşürmüş, bu da hücre membran lipitlerinin ve DNA' nın oksidatif hasardan korunduğunu göstermiştir. Mikroskobik olarak da gözlenen epitel hücre ve mukozal yapı kaybının azalması MSB ile daha çok hücrenin canlılığını koruyabildiğini muhtemelen kaspaz yollarının da inaktive edildiğini nekroz ve apoptozdan korunduğunu desteklemektedir.

Vitamin K3'ün antiinflamatuvar etkilerinin sinyal yollarının ötesinde aynı zamanda ROS üretimi ve redoks sistemi üzerindeki düzenleyici etkileriyle NF- κ B' yi dolaylı yoldan baskılayabileceği bildirilmiştir (Tanaka ve diğerleri, 2010). Ayrıca, MSB'nin antiinflamatuvar etkilerinin NLRP3 inflammasomunu seçici olarak baskılama yoluyla ortaya çıktığı bildirilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2021). Kinon yapısındaki bileşiklerin diğer bileşikler ile etkileşime geçerek ROS üretebilme potansiyelleri ile organizmada alkilleyici özellik gösterebilecekleri bilinmektedir (Aoganghua ve diğerleri, 2011). Kinon halkasının elektron alışverişi ile ROS üretebileceği bu nedenle yüksek dozlarda prooksidan, düşük dozlarda antioksidan özellik gösterebileceği bildirilmiştir (Shertzer ve diğerleri, 1992; McAmis ve diğerleri, 2003). Menadionun yüksek dozlarında karaciğer hasarı ve hemolitik

anemi gösterilen riskleri arasındadır (Zheng ve diğerleri, 2021). Ancak menadionun düşük dozlarda güvenle kullanılabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Zheng ve diğerleri, 2021). Menadion güvenli düşük doz aralıklarında ROS'u temizleyerek nöroprotektif etkiler göstermiştir (Yang ve diğerleri 2018). K3 vitamini naringenin yaklaşık 6 katı kadar DPPH aktivitesine sahip olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Yaneva ve diğerleri, 2023). Menadionun doza bağlı bu çift yönlü etkilerini gözönünde bulundurduğumuzda çalışmamızda güvenli düşük doz aralıklarında çalışmayı tercih ettik ve bu doz aralıklarında MSB' nin TOS, MDA, 8-OHdG gibi oksidatif stres parametrelerini azaltarak ve DNA ve lipid hasarını önleyen, aynı zamanda TAS, GSH-Px ve SOD düzeylerini arttıran bir antioksidan olarak davrandığını gözlemledik. Nrf2; SOD, GSH gibi antioksidan savunma sistemlerini aktive ederek epitel hasarını azaltan ve NF-kB gibi proinflamatuvar sinyalleri baskılayan önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Nrf2 eksikliği olan hayvanlarda kolitin daha şiddetli seyrettiği; proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) arttığı gösterilmiştir. Nrf2, ayrıca regülatör T hücreleri (Treg) hücrelerini artırarak immün regülasyonu da sağlamaktadır (Peng ve diğerleri, 2023). Yapılan çalışmalar Vitamin K3 takviyesin, kanatlı hayvanların jejunumlarında Nrf2 artışı ile antioksidan kapasitelerin, SOD ve CAT düzeylerinin arttığını göstermişlerdir (Li ve diğerleri, 2022). Çalışmamızda azalan antioksidan parametrelerin MSB tedavisi ile yükselmesi olası Nrf2 yolları üzerinden fayda sağlamış olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz makroskopik Wallace skorları TNBS ile şiddetli bir kolit oluşturduğumuzu göstermektedir. Kolitli hayvanlarda nekrotik ve ülseratif alanların oldukça yaygın olduğu gözlenmiştir. Birçok deneysel TNBS kolit çalışmasında makroskopik olarak gözlenen bu sonuçlar literatür ile uyumludur. Alizade Naini ve diğerleri, 2021, TNBS modelinde 7. gün sitokin artışları ile artan oksidatif strese paralel olarak makroskopik olarak, ödem, hiperemi, iltihap ve ülser bulgularını kaydetmişlerdir. Albuquerque ve diğerleri 2020 ve Almási ve diğerleri, 2023 ise 3. gün makroskopik olarak ciddi ödem, hiperemi, ülserasyon gözlemişlerdir. Ancha ve diğerleri, 2009 ve Antoniou ve diğerleri, 2016, bu bulguların hepsine ek olarak dışkı birikimleri not etmişlerdir.

Tüm bu elde ettiğimiz yüksek Wallace skorlarına dayalı makroskopik gözlemler, uyguladığımız MSB tedavisi ile Wallace skorlarında MSB4x3 daha anlamlı bir etki göstermekle birlikte ($p<0,001$), MSB10 grubunda da anlamlı iyileşmeler göstermiştir ($p<0,01$). 4 mg/ kg'lık tek dozda ise makroskopik skorlar açısından anlamlı bir fark

gözlenmemiştir ($p>0,05$). Burada etkili olan gruplarda kümülatif dozların birbirine yakın olmasının anlamlı sonuçlar vermiş olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca inflamasyonun erken fazlarının inhibe edilmesi için tüm gruplarda TNBS indüksiyonundan 1 saat sonra MSB verilmesi uygun bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da makroskobik skorların iyileştiği gruplarda aynı şekilde mikroskobik histopatolojik total skorlamalarında anlamlı şekilde düşürülerek her iki skorlamanın örtüştüğü izlenmiştir. Uzman patolog tarafından yapılan skorlamaların birbiriyle uyumlu olarak total sonucu yansıttığını görülmüştür. TNBS kaynaklı kolit çalışmamızda; iltihabi infiltrasyon, hemoraji, nekroz, kript apseleri, ödem, goblet hücre kaybı, mukozal yapı kaybı, kolon duvarı kalınlaşması gibi histopatolojik parametrelerin hepsinde kolit olmayan hayvanlara göre önemli düzeyde anlamlı artışlar kaydettik ($p<0,001$). Albuquerque ve diğerleri 2020 ve Almási ve diğerleri, 2023'nin çalışmalarında birçok çalışmada gösterildiği gibi bizim bulgularımıza benzer olarak 3. gün makroskobik skorların yanında mukozal ülserasyon, kript hasarı veya kaybı, epitel kaybı, goblet hücre kaybı, lümen inflamatuvar hücre infiltrasyonu, lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu, submukozal ödem, kas tabakasında bozulma gibi histopatolojik bulguları da bildirmişlerdir. Antoniou ve diğerleri 2016 ise, 3. gün de bu bulgulara ek olarak yaygın fibrozis de bildirmişlerdir. TNBS ile oluşan sitokin artışları infiltrasyonun, kript apselerinin bir nedeni, MPO yükselmeleri infiltrasyonun bir sonucu ve göstergesi olarak kaydedildi. Hemoraji, ödem, gibi bulgular vasküler geçirgenliğin arttığını gösterdi bu da artan PGE_2 düzeyleri ile uyumluydu. Mukozal yapı kaybı inflamasyonun neden olduğu nekrozu işaret etmektedir. Goblet hücre görünümünün kaybı ise aşırı inflamasyonun sebep olduğu nekrotik hücre ölümünden kaynaklanabileceği gibi aşırı tüketim sonrası boşalarak büzülmelerinden de kaynaklanabilir (Yang ve Yu., 2021; Specian ve Oliver, 1991). Kolon duvarı kalınlaşması ise kas tabakasına ilerlemiş olan inflamasyonun yarattığı hipertrofi ile hücre infiltrasyonları ve ödemin de katkıda bulunduğu bir histopatolojik bir belirteç olarak yorumlanmaktadır (Perše ve Cerar, 2012; Kellermann ve Riis, 2021). Kolit oluşturduğumuz grupta infiltrasyon düzeyleri sağlıklı hayvanlara göre yüksek anlamlılık düzeyinde artmıştır ($p<0,001$). Bu dokuya nötrofiller gibi bağışıklık hücrelerinin göçü ve salgıladıkları artmış MPO enzimi bulgularımız ile örtüşmektedir. Mikroskobik parametrelerde ise MSB ile tedavimizde iltihabi infiltrasyon bütün tedavi gruplarında azalmasına rağmen sadece en fazla azalmanın görüldüğü MSB4x3 grubunda istatistiksel anlam kazanmıştır ($p<0,01$). Diğer gruplarda infiltrasyon görünümündeki hücre yoğunluğundaki azalma anlamlı

bulunamasa da MPO'nun tüm gruplarda azalması hücrelerin bireysel olarak da MPO üretim yeteneklerinin baskılandığını düşündürmektedir. Genel anlamda bakıldığında MSB, infiltrasyon ve MPO düzeylerini azaltmıştır. Hemoraji, nekroz, kript apseleri, goblet hücre kaybı, mukozal yapı kaybı, kolon duvarı kalınlaşması gibi tüm skorlar TNBS grubunda artarken MSB4x3 ve MSB10 tedavi gruplarında makroskopik skorlar ile ve birbiriyle uyumlu olarak azalmıştır. Ödem skorları sadece MSB4x3 grubunda anlam kazansa da ($p<0,05$) tüm gruplarda TNBS'ye göre düşük bulunmuştur. Burada ödem parametresinde TNBS ile oluşturulan şiddetli kolit aşırı nekroza neden olarak dokunun epitel bütünlüğünü bozarak sıvının birikebileceği alanları ortadan kaldırmış ve bu nedenle ödem parametresini yorumlamak zorlaşmıştır. Buna rağmen nekroza komşu dokularda bir miktar gözlenebilen alanlarda skorlama yapılmıştır. Tüm histopatolojik parametrelerden oluşan Total doku hasarı skorlarında ise TNBS grubunda anlamlı ve önemli ölçüde bir skor artışı görülmüştür ($p<0,001$) MSB4x3 grubunda en yüksek anlamlılık düzeyinde ve en fazla düşüş gözlenmiştir ($p<0,001$). MSB10 grubunda ise orta düzeyde bir anlamlılık ile de olsa önemli bir düşüş kaydedilmiştir. ($p<0,01$). Bu bulgular doku hasarının hem makroskopik skorlar ile hem de TNF- α , IL-6, IL-1 β , MPO, PGE2 ve düzeyleri ile uyumlu olarak azaldığını göstermiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak tüm bu veriler menadion sodyum bisülfidin, vitamin K'nın yalnızca pıhtılaşma süreçlerinde değil, inflamasyonun düzenlenmesinde de önemli bir biyolojik rol üstlenebileceğini göstermektedir. Özellikle menadion (vitamin K3), çeşitli mekanizmaları hedef alabilmesi ve çeşitli inflamatuvar hastalık modellerinde gösterdiği olumlu etkiler nedeniyle dikkat çekmektedir. Bu amaçla çalışmamızda, menadionun TNBS ile indüklenen kolit modelinde inflamasyon üzerindeki etkilerinin hem immün bileşenler hem de oksidatif mekanizmalar açısından bütüncül bir bakış açısıyla araştırılması amaçlanmıştır. Sonuçlarımız MSB' nin TNBS kaynaklı kolit modelinde doku ve serum düzeyinde antiinflamatuvar etkiler gösterdiğini, kolon dokusunda oksidatif stresi azaltarak doku hasarını yansıtan makroskobik ve mikroskobik parametreleri iyileştirdiğini göstermiştir. MSB' nin bu çalışmada gözlenen potansiyellerinin inflamatuvar modellerde bizim çalışmamızdaki gibi çok yönlü bileşenleri ile ele alınarak ve moleküler yollarının da aydınlatılarak ortaya konabileceği çalışmalara ihtiyaç vardır. Mevcut potansiyeli ile İBH tedavisinde glukokortikoidlerin aşırı ve uzun süre kullanımına bağlı yan etkilerinden, aynı zamanda NSAID ilaçların ise mukozal hasarı ve kolit şiddetini artırıcı etkilerinden kaçınmak, epitel bütünlüğü koruyarak dokuda oksidatif hasarı azaltarak ve antioksidan kapasiteyi arttırarak alternatif güçlü immünoregülatör ve antiinflamatuvar etkiler gösterebilen bir ajan olarak tedavi stratejilerinde gelecekteki yerini alabilir. Bu nedenle, menadionun anti-inflamatuvar potansiyelinin, benzer modellerde farklı deneysel tasarımlarda, moleküler düzeyde hangi yollar üzerinden gerçekleştiğine yönelik gelecekteki çalışmalar, yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Aldrich, S. M., & Regal, R. E. (2019). *Routine Use of Vitamin K in the Treatment of Cirrhosis- Related Coagulopathy: Is it A-O-K? Maybe Not, We Say. Pharmacy and Therapeutics* 44(3). 131-136. PMID: 30828234.
- Albuquerque, R. M., Pizzitola, M. P., Araújo E Silva, A. C., Dittz, D., Freitas, K. M., Ferreira, Ê.,...Lopes, M. T. P. (2020). The Proteolytic Fraction From *Vasconcellea cundinamarcensis* Latex Displays Anti-Inflammatory Effect in A Mouse Model of Acute TNBS-Induced Colitis. *Scientific Reports*, 10(1), 3074. doi.org/10.1038/s41598-020-59895-3
- Alizade Naini, M., Mehrvarzi, S., Zargari-Samadnejadi, A., Tanideh, N., Ghorbani, M., Dehghanian, A.,...Iraji, A. (2021). The Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Quercus brantii* Extract on TNBS-Induced Ulcerative Colitis in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1–12. doi.org/10.1155/2021/3075973
- Al-Mansori, A., Al-Sbiei, A., Bashir, G. H., Qureshi, M. M., Tariq, S., Altahrawi, A.,...Fernandez-Cabezudo, M. J. (2024). Effect of acetylcholinesterase inhibition on immune cells in the murine intestinal mucosa. *Heliyon*, 10(13), e33849. doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33849
- Almási, N., Török, S., Al-awar, A., Veszeka, M., Király, L., Börzsei, D.,...& Varga, C. (2023). Voluntary Exercise-Mediated Protection in TNBS-Induced Rat Colitis: The Involvement of NETosis and Prdx Antioxidants. *Antioxidants*, 12(8), 1531. doi.org/10.3390/antiox12081531
- Amiti, Tamizhselvi, R. ve Manickam, V. (2019). Menadione (vitamin K3) inhibits hydrogen sulfide and substance P via NF-κB pathway in caerulein-induced acute pancreatitis and associated lung injury in mice. *Pancreatology*, 19(2), 266–273. doi.org/10.1016/j.pan.2019.01.012

- Ancha, H. R., Kurella, R. R., McKimmey, C. C., Lightfoot, S. ve Harty, R. F. (2009). Effects of N-Acetylcysteine Plus Mesalamine on Prostaglandin Synthesis and Nitric Oxide Generation in TNBS-Induced Colitis in Rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(4), 758–766. doi.org/10.1007/s10620-008-0438-0
- Andrade, J. C., Morais Braga, M. F. B., Guedes, G. M. M., Tintino, S. R., Freitas, M. A., Quintans, L. J.,...Coutinho, H. D. M. (2017). Menadione (vitamin K) enhances the antibiotic activity of drugs by cell membrane permeabilization mechanism. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1), 59–64. doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.004
- Antoniou, E., Margonis, G. A., Angelou, A., Pikouli, A., Argiri, P., Karavokyros, I., ...Pikoulis, E. (2016). The TNBS-induced colitis animal model: An overview. *Annals of Medicine & Surgery*, 11, 9–15. doi.org/10.1016/j.amsu.2016.07.019
- Aoganghua A., Nishiumi S., Kobayashi K., Nishida M., Kuramochi K., Tsubaki K.,... Yoshida M (2011). Inhibitory effects of vitamin K3 derivatives on DNA polymerase and inflammatory activity. *International Journal of Molecular Medicine*, 28(6):937-45. doi.org/10.3892/ijmm.2011.773
- Appleyard, C. B. ve Wallace, J. L. (1995). Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 269(1), G119–G125. doi.org/10.1152/ajpgi.1995.269.1.G119
- Araruna, M. E. C., Alves Júnior, E. B., De Lima Serafim, C. A., Pessoa, M. M. B., De Souza Pessôa, M. L., Alves, V. P., Sobral, M. V., Da Silva, M. S., Alves, A. F., De Paiva Sousa, M. C., Araújo, A. A., & Batista, L. M. (2024). (-)-Fenchone Ameliorates TNBS-Induced Colitis in Rats via Antioxidant, Immunomodulatory, and Cytoprotective Mechanisms. *Pharmaceuticals*, 18(1), 18. doi.org/10.3390/ph18010018
- Arunachalam, K., Damazo, A. S., Macho, A., Matchado, M. S., Pavan, E., Figueiredo, F. D. F.,...Martins, D. T. D. O. (2021). Canthin-6-one ameliorates TNBS-induced colitis in rats by modulating inflammation and oxidative stress. An in vivo and in silico approach. *Biochemical Pharmacology*, 186, 114490. doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114490

- Astakhova, T. M., Morozov, A. V., Erokhov, P. A., Mikhailovskaya, M. I., Akopov, S. B., Chupikova, N. I.,...Sharova, N. P. (2018). Combined Effect of Bortezomib and Menadione Sodium Bisulfite on Proteasomes of Tumor Cells: The Dramatic Decrease of Bortezomib Toxicity in a Preclinical Trial. *Cancers*, 10(10), 351. doi.org/10.3390/cancers10100351
- Attallah, N. G. M., El-Sherbeni, S. A., El-Kadem, A. H., Elekhrawy, E., El-Masry, T. A., Elmongy, E. I.,...Negm, W. A. (2022). Elucidation of the Metabolite Profile of *Yucca gigantea* and Assessment of Its Cytotoxic, Antimicrobial, and Anti-Inflammatory Activities. *Molecules*, 27(4), 1329. doi.org/10.3390/molecules27041329
- Bai, A., Guo, Y. ve Lu, N. (2007). The Effect of the Cholinergic Anti-Inflammatory Pathway on Experimental Colitis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 66(5), 538–545. doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.02011.x
- Bai, H., Arai, H., Ikuta, K., Ishikawa, S., Ohtani, Y., Iwashita, K.,... Obara, Y. (2022). Effects of dietary vitamin K₃ supplementation on vitamin K₁ and K₂ (menaquinone) dynamics in dairy cows. *Animal Science Journal*, 93(1). doi.org/10.1111/asj.13680
- Bai, J., Yu, J., Wang, J., Xue, B., He, N., Tian, Y.,... Tang, Q. (2019). DNA Methylation of miR-122 Aggravates Oxidative Stress in Colitis Targeting SELENBP1 Partially by p65NF-κB Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–14. doi.org/10.1155/2019/5294105
- Bakalova, R., Semkova, S., Ivanova, D., Zhelev, Z., Miller, T., Takeshima, T.,...Higashi, T. (2020). Selective Targeting of Cancerous Mitochondria and Suppression of Tumor Growth Using Redox-Active Treatment Adjuvant. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–30. doi.org/10.1155/2020/6212935
- Balogun, B. A., Aliyu, N. O. ve Ajiboye, T. O. (2019). Menadione perturbs oxidative stress biomarkers and testicular function indices of rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(5), e22282. doi.org/10.1002/jbt.22282
- Barker, N. (2014). Adult intestinal stem cells: Critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 19–33. doi.org/10.1038/nrm3721

- Bhatia, M. (2004). Apoptosis of pancreatic acinar cells in acute pancreatitis: Is it good or bad? *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 8(3), 402–409. doi.org/10.1111/j.1582-4934.2004.tb00330.x
- Bourgonje, A. R., Feelisch, M., Faber, K. N., Pasch, A., Dijkstra, G. ve Van Goor, H. (2020). Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease. *Trends in Molecular Medicine*, 26(11), 1034–1046. doi.org/10.1016/j.molmed.2020.06.006
- Brenna, Ø., Furnes, M. W., Drozdov, I., Van Beelen Granlund, A., Flatberg, A., Sandvik, A. K.,...Gustafsson, B. I. (2013). Relevance of TNBS-Colitis in Rats: A Methodological Study with Endoscopic, Histologic and Transcriptomic Characterization and Correlation to IBD. *PLoS ONE*, 8(1), e54543. doi.org/10.1371/journal.pone.0054543
- Broom, O. J., Widjaya, B., Troelsen, J., Olsen, J. ve Nielsen, O. H. (2009). Mitogen activated protein kinases: A role in inflammatory bowel disease? *Clinical and Experimental Immunology*, 158(3), 272–280. doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.04033.x
- Bruscoli, S., Febo, M., Riccardi, C. ve Migliorati, G. (2021). Glucocorticoid Therapy in Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms and Clinical Practice. *Frontiers in Immunology*, 12, 691480. doi.org/10.3389/fimmu.2021.691480
- Buchman, A. L. (2001). Side Effects of Corticosteroid Therapy. *J Clin Gastroenterol*, 33(4): 289-94. doi.org/10.1097/00004836-200110000-00006.
- Burisch, J. ve Munkholm, P. (2015). The epidemiology of inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 50(8), 942–951. doi.org/10.3109/00365521.2015.1014407
- Calabrese, E. J., & Kozumbo, W. J. (2021). The hormetic dose-response mechanism: Nrf2 activation. *Pharmacological Research*, 167, 105526. doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105526
- Camacho-Barquero, L., Villegas, I., Sánchez-Calvo, J. M., Talero, E., Sánchez-Fidalgo, S., Motilva, V. ve Alarcón De La Lastra, C. (2007). Curcumin, a Curcuma longa constituent, acts on MAPK p38 pathway modulating COX-2 and iNOS expression in

- chronic experimental colitis. *International Immunopharmacology*, 7(3), 333–342. doi.org/10.1016/j.intimp.2006.11.006
- Card, D. J., Gorska, R., Cutler, J. ve Harrington, D. J. (2014). Vitamin K metabolism: Current knowledge and future research. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(8), 1590–1600. doi.org/10.1002/mnfr.201300683
- Carpentieri, A., Marchionatti, A., Areco, V., Perez, A., Centeno, V. ve Tolosa De Talamoni, N. (2014). Antioxidant and antiapoptotic properties of melatonin restore intestinal calcium absorption altered by menadione. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 387(1–2), 197–205. doi.org/10.1007/s11010-013-1885-2
- Cerilli, L. A. ve Greenson, J. K. (2012). The Differential Diagnosis of Colitis in Endoscopic Biopsy Specimens: A Review Article. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 136(8), 854–864. doi.org/10.5858/arpa.2012-0205-RA
- Chatterjee, S. (2016). Oxidative Stress, Inflammation, and Disease. Dziubla, T. ve Butterfield, D. A. (Eds.). In “*Oxidative stress and biomaterials*”. Elsevier/Academic Press. (pp 35-58). ISBN: 9780128032701
- Checker, R., Sharma, D., Sandur, S. K., Khan, N. M., Patwardhan, R. S., Kohli, V. ve Sainis, K. B. (2011). Vitamin K3 suppressed inflammatory and immune responses in a redox-dependent manner. *Free Radical Research*, 45(8), 975–985. doi.org/10.3109/10715762.2011.585647
- Cheung, M. K., Yue, G. G. L., Chiu, P. W. Y. ve Lau, C. B. S. (2020). A Review of the Effects of Natural Compounds, Medicinal Plants, and Mushrooms on the Gut Microbiota in Colitis and Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 744. doi.org/10.3389/fphar.2020.00744
- Chinzei, R., Masuda, A., Nishiumi, S., Nishida, M., Onoyama, M., Sanuki, T.,...Yoshida, M. (2011). Vitamin K3 Attenuates Cerulein-Induced Acute Pancreatitis Through Inhibition of the Autophagic Pathway. *Pancreas*, 40(1), 84–94. doi.org/10.1097/mpa.0b013e3181f69fc9
- Coşkun, Ö., Öztopuz, Ö. ve Büyük, B. (2020). Lentinula edodes Ekstraktının Sıçan Karaciğer Dokusu Üzerine İnflamatuvar ve Apoptotik Etkisinin Değerlendirilmesi.

European Journal of Science and Technology, (19), 803-808.
doi.org/10.31590/ejosat.762597

- Criddle, D. N., Gillies, S., Baumgartner-Wilson, H. K., Jaffar, M., Chinje, E. C., Passmore, S.,...Petersen, O. H. (2006). Menadione-induced Reactive Oxygen Species Generation via Redox Cycling Promotes Apoptosis of Murine Pancreatic Acinar Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 281(52), 40485–40492. doi.org/10.1074/jbc.m607704200
- Cury, D. B., Mizsputen, S. J., Versolato, C., Mijji, L. O., Pereira, E., Delboni, M. A. ve Moss, A. C. (2013). Serum calprotectin levels correlate with biochemical and histological markers of disease activity in TNBS colitis. *Cellular Immunology*, 282(1), 66–70. doi.org/10.1016/j.cellimm.2013.04.004
- De Souza, A. S., Ribeiro, R. C. B., Costa, D. C. S., Pauli, F. P., Pinho, D. R., De Moraes, M. G. ve Ferreira, V. F. (2022). Menadione: A platform and a target to valuable compounds synthesis. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 18, 381–419. doi.org/10.3762/bjoc.18.43
- Demir O., Demirci B., Meteoglu I., Kozaci D., Dost T., (2025). Effect of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on colonic inflammation and tissue damage in a rat model of TNBS-induced colitis. *Indian Journal of Experimental Biology*, 63(04). pp (323-330) doi.org/10.56042/ijeb.v63i04.15399.
- Deniz, N. G., Abdassalam, A. F. S., Özyürek, M., Yesil, E. A. ve Sayil, C. (2020). New vitamin K3 (menadione) analogues: Synthesis, characterization, antioxidant and catalase inhibition activities. *Journal of Chemical Sciences*, 132(1), 138. doi.org/10.1007/s12039-020-01835-9
- Dong, W.-G., Mei, Q., Yu, J.-P., Xu, J.-M., Xiang, Li., Xu, Yu. (2003). Effects of melatonin on the expression of iNOS and COX-2 in rat models of colitis. *World Journal of Gastroenterology*, 9(6), 1307. doi.org/10.3748/wjg.v9.i6.1307
- Dorrington, A. M., Selinger, C. P., Parkes, G. C., Smith, M., Pollok, R. C. ve Raine, T. (2020). The Historical Role and Contemporary Use of Corticosteroids in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 14(9), 1316–1329. doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjaa053

- Dost, T., Özkayran, H., Gökalp, F., Yenisey, C. ve Birincioğlu, M. (2009). The Effect of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort) on Experimental Colitis in Rat. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(6), 1214–1221. doi.org/10.1007/s10620-008-0477-6
- Dubois-Camacho, K., Ottum, P. A., Franco-Muñoz, D., De La Fuente, M., Torres-Riquelme, A., Díaz-Jiménez, D,... Hermoso, M. A. (2017). Glucocorticosteroid therapy in inflammatory bowel diseases: From clinical practice to molecular biology. *World Journal of Gastroenterology*, 23(36), 6628–6638. doi.org/10.3748/wjg.v23.i36.6628
- Dupont-Lucas, C., Marion-Letellier, R., Pala, M., Guerin, C., Bôle-Feysot, C., Salameh, E.,...Savoye, G. (2021). Magnetic resonance colonography assessment of acute trinitrobenzene sulfonic acid colitis in pre-pubertal rats. *PLOS ONE*, 16(11), e0259135. doi.org/10.1371/journal.pone.0259135
- EFSA (European Food Safety Authority). Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2014). Scientific Opinion on the safety and efficacy of vitamin K3 (menadione sodium bisulphite and menadione nicotinamide bisulphite) as a feed additive for all animal species. *EFSA Journal*, 12(1). doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3532
- Eğin, S., İlhan, M., Bademler, S., Gökçek, B., Hot, S., Ekmekçi, H,...Güloğlu, R. (2018). Protective effects of pentoxifylline in small intestine after ischemia–reperfusion. *Journal of International Medical Research*, 46(10), 4140–4156. doi.org/10.1177/0300060518786904
- Ejder, Z. B. ve Ekici, E. M. (2024). K Vitamini ve Bilişsel Performans: Mini Bir Derleme. *Avrasya Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 61–67. doi.org/10.53493/avasyasbd.1339322
- Elekhawwy, E., Eliwa, D., Mahgoub, S., Magdeldin, S., Moglad, E., Ibrahim, S,... Negm, W. A. (2025). Promising protective treatment potential of endophytic bacterium *Rhizobium aegyptiacum* for ulcerative colitis in rats. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 26(3), 286–301. doi.org/10.1631/jzus.B2300777
- Elsayed, E. A., El Enshasy, H., Wadaan, M. A. M. ve Aziz, R. (2014). Mushrooms: A Potential Natural Source of Anti-Inflammatory Compounds for Medical Applications. *Mediators of Inflammation*, ID 805841,–15. doi.org/10.1155/2014/805841

- Erdem, İ., Aktas, S., Ögüt, S. (2024) Neohesperidin Dihydrochalcone Ameliorates Experimental Colitis via Anti-Inflammatory, Antioxidative, and Antiapoptosis Effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 72(28),15715–15724 doi.org/10.1021/acs.jafc.4c02731
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277–285. doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103–1111. doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008
- Ferreira-Duarte, M., Rodrigues-Pinto, T., Menezes-Pinto, D., Esteves-Monteiro, M., Gonçalves-Monteiro, S., Capas-Peneda, S.,...Duarte-Araújo, M. (2021). 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in *Rattus norvegicus*: A categorization proposal. *Experimental Animals*, 70(2), 245–256. doi.org/10.1538/expanim.20-0113
- Ferretti, F., Cannatelli, R., Monico, M. C., Maconi, G. ve Ardizzone, S. (2022). An Update on Current Pharmacotherapeutic Options for the Treatment of Ulcerative Colitis. *Journal of Clinical Medicine*, 11(9), 2302. doi.org/10.3390/jcm11092302
- Fiorentini, D., Cipollone, M., Galli, M.C. ve Landi L. (1997) Antioxidant activity of reduced menadione in solvent solution and in model membranes. *Free Radic Res*. May;26(5):419-29. doi: 10.3109/10715769709084478. PMID: 9179587.
- Gersemann, M., Becker, S., Nuding, S., Antoni, L., Ott, G., Fritz, P.,...Stange, E. F. (2012). Olfactomedin-4 is a glycoprotein secreted into mucus in active IBD. *Journal of Crohn's and Colitis*, 6(4), 425–434. doi.org/10.1016/j.crohns.2011.09.013
- Gill, R., Tsung, A. ve Billiar, T. (2010). Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(9), 1121–1132. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.01.006
- González, R., Rodríguez, S., Romay, C., González, A., Armesto, J., Ramirez, D. ve Merino, N. (1999). Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacological Research*, 39(1), 55–59. doi.org/10.1006/phrs.1998.0409

- Hassan G. S. (2013). Menadione G. S. Harry G. Brittain (Ed.) *In Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. 38,(pp.227–313). Elsevier. ISBN 9780124076914 doi.org/10.1016/b978-0-12-407691-4.00006-x
- He, Q., Wang, Z., Cao, X., Chen, H. ve Ke, Y. (2001). Determination of Menadione Sodium Bisulfite in Pharmaceutical Preparations by Flow-Injection On-line Photochemical Spectrofluorometry. *Analytical Sciences*, 17(10), 1209–1212. doi.org/10.2116/analsci.17.1209
- Head, K. A. ve Jurenka, J. S. (2003). Inflammatory Bowel Disease Part I: Ulcerative Colitis – Pathophysiology and Conventional and Alternative Treatment Options. *Altern Med Rev*, 8(3), 247-83. PMID: 12946238
- Hindryckx, P., Jairath, V. ve D’Haens, G. (2016). Acute severe ulcerative colitis: From pathophysiology to clinical management. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(11), 654–664. doi.org/10.1038/nrgastro.2016.116
- Hirota, Y., Tsugawa, N., Nakagawa, K., Suhara, Y., Tanaka, K., Uchino, Y.,... Okano, T. (2013). Menadione (Vitamin K3) Is a Catabolic Product of Oral Phylloquinone (Vitamin K1) in the Intestine and a Circulating Precursor of Tissue Menaquinone-4 (Vitamin K2) in Rats. *Journal of Biological Chemistry*, 288(46), 33071–33080. doi.org/10.1074/jbc.m113.477356
- Hodges, S. J., Pitsillides, A. A., Ytrebø, L. M. ve Soper, R. (2017). Anti-Inflammatory Actions of Vitamin K. In J. O. Gordeladze (Ed.), *Vitamin K2—Vital for Health and Wellbeing*. Chapter 8, InTech., doi.org/10.5772/63891
- Hu, L., Liu, J. ve Yin, J. (2021). Eriodictyol attenuates TNBS -induced ulcerative colitis through repressing TLR4 / NF-kB signaling pathway in rats. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 37(9), 812–818. doi.org/10.1002/kjm2.12400
- Hu, S., Ma, Y., Xiong, K., Wang, Y., Liu, Y., Sun, Y.,...Ma, A. (2023). Ameliorating Effects of Vitamin K2 on Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2986. doi.org/10.3390/ijms24032986
- Huang, Y., Su, Y., Qin, R., Wang, L., Zhang, Z., Huang, W.,...Wang, H. (2023). Mechanism by which oleracein E alleviates TNBS-induced ulcerative colitis. *European Journal*

of Gastroenterology & Hepatology, 35(8), 854–864.
doi.org/10.1097/MEG.0000000000002597

Jakobovits, S. L. ve Travis, S. P. L. (2005). Management of acute severe colitis. *British Medical Bulletin*, 75–76(1), 131–144. doi.org/10.1093/bmb/ldl001

Johansson, M. E. V. (2014). Mucus Layers in Inflammatory Bowel Disease: *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(11), 2124–2131. doi.org/10.1097/MIB.0000000000000117

Johansson, M. E. V., Gustafsson, J. K., Holmén-Larsson, J., Jabbar, K. S., Xia, L., Xu, H.,...Hansson, G. C. (2014). Bacteria penetrate the normally impenetrable inner colon mucus layer in both murine colitis models and patients with ulcerative colitis. *Gut*, 63(2), 281–291. doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303207

Kankuri, E., Vaali, K., Korpela, R., Paakkari, I., Vapaatalo, H. ve Moilanen, E. (2001). Effects of a COX-2 Preferential Agent Nimesulide on TNBS-Induced Acute Inflammation in the Gut. *Inflammation*, 25(5):301-10.
http://doi.org/10.1023/a:1012860509440.

Karp, S. M. ve Koch, T. R. (2006). Oxidative Stress and Antioxidants in Inflammatory Bowel Disease. *Disease-a-Month*, 52(5), 199–207.
doi.org/10.1016/j.disamonth.2006.05.005

Kazi, H. ve Qian, Z. (2009). Crocetin reduces TNBS-induced experimental colitis in mice by downregulation of NF-kB. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 15(3), 181.
doi.org/10.4103/1319-3767.54750

Kellermann, L. ve Riis, L. B. (2021). A close view on histopathological changes in inflammatory bowel disease, a narrative review. *Digestive Medicine Research*, 4, 3–3. doi.org/10.21037/dmr-21-1

Kieronska-Rudek, A., Kij, A., Kaczara, P., Tworzydło, A., Napiorkowski, M., Sidoryk, K. ve Chlopicki, S. (2021). Exogenous Vitamins K Exert Anti-Inflammatory Effects Dissociated from Their Role as Substrates for Synthesis of Endogenous MK-4 in Murine Macrophages Cell Line. *Cells*, 10(7), 1571. doi.org/10.3390/cells10071571

Kim, Y. J., Kim, E. ve Hahm, K. B. (2012). Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases: Challenges and opportunities. *Journal of*

- Gastroenterology and Hepatology*, 27(6), 1004–1010. doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07108.x
- Kishore, C., Sundaram, S. ve Karunagaran, D. (2019). Vitamin K3 (menadione) suppresses epithelial-mesenchymal-transition and Wnt signaling pathway in human colorectal cancer cells. *Chemico-Biological Interactions*, 309, 108725. doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108725
- Kojima, F., Hioki, Y., Sekiya, H., Kashiwagi, H., Iizuka, Y., Eto, K.,...Ichikawa, T. (2024). Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 Controls Colonic Prostaglandin E2 Production and Exerts a Protective Effect on Colitis Induced by Trinitrobenzene Sulfonic Acid in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22), 12326. doi.org/10.3390/ijms252212326
- Kusunoki, M., Möeslein, G., Shoji, Y., Fujita, S., Yanagi, H., Sakanoue, Y.,...Utsunomiya, J. (1992). Steroid complications in patients with ulcerative colitis. *Diseases of the Colon & Rectum*, 35(10), 1003–1009. doi.org/10.1007/BF02253508
- Lai, Y., Masatoshi, H., Ma, Y., Guo, Y. ve Zhang, B. (2022). Role of Vitamin K in Intestinal Health. *Frontiers in Immunology*, 12-2021. doi.org/10.3389/fimmu.2021.791565
- Landa, P., Kutil, Z., Temml, V., Vuorinen, A., Malik, J., Dvorakova, M.,...Vanek, T. (2012). Redox and Non-Redox Mechanism of *In Vitro* Cyclooxygenase Inhibition by Natural Quinones. *Planta Medica*, 78(04), 326–333. doi.org/10.1055/s-0031-1280430
- Lee, C. H., Koh, S.-J., Radi, Z. A. ve Habtezion, A. (2023). Animal models of inflammatory bowel disease: Novel experiments for revealing pathogenesis of colitis, fibrosis, and colitis-associated colon cancer. *Intestinal Research*, 21(3), 295–305. doi.org/10.5217/ir.2023.00029
- Lee, J.-Y., Lee, M.-Y., Chung, S.-M. ve Chung, J.-H. (1999). Menadione-Induced Vascular Endothelial Dysfunction and Its Possible Significance. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 161(2), 140–145. doi.org/10.1006/taap.1999.8795
- Lee, M. H., Yang, J. Y., Cho, Y., Woo, H. J., Kwon, H. J., Kim, D. H.,...Kim, J.-B. (2019). Inhibitory Effects of Menadione on Helicobacter pylori Growth and Helicobacter pylori-Induced Inflammation via NF-κB Inhibition. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1169. doi.org/10.3390/ijms20051169

- Li, L., Liu, Z., Fang, B., Xu, J., Dong, X., Yang, L.,...Ding, B. (2022). Effects of Vitamin A and K3 on Immune Function and Intestinal Antioxidant Capacity of Aged Laying Hens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 24(4). doi.org/10.1590/1806-9061-2021-1572
- Li, L., Peng, P., Ding, N., Jia, W., Huang, C. ve Tang, Y. (2023). Oxidative Stress, Inflammation, Gut Dysbiosis: What Can Polyphenols Do in Inflammatory Bowel Disease? *Antioxidants*, 12(4), 967. doi.org/10.3390/antiox12040967
- Li, Y., Soendergaard, C., Bergenheim, F. H., Aronoff, D. M., Milne, G., Riis, L. B.,...Nielsen, O. H. (2018). COX-2–PGE2 Signaling Impairs Intestinal Epithelial Regeneration and Associates with TNF Inhibitor Responsiveness in Ulcerative Colitis. *EBioMedicine*, 36, 497–507. doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.08.040
- Long, M. D., Kappelman, M. D., Martin, C. F., Chen, W., Anton, K. ve Sandler, R. S. (2016). Role of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Exacerbations of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 50(2), 152–156. doi.org/10.1097/MCG.0000000000000421
- Lugrin, J., Rosenblatt-Velin, N., Parapanov, R. ve Liaudet, L. (2014). The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biological Chemistry*, 395(2), 203–230. doi.org/10.1515/hsz-2013-0241
- Luo X., Yu, Z., Deng, C., Zhang, J., Ren, G., Sun, A.,...Mani, S. (2017). Baicalein ameliorates TNBS induced colitis by suppressing TLR4/MyD88 signaling cascade and NLRP3 inflammasome activation in mice. *Scientific Reports* 7: 16374 doi:10.1038/s41598-017-12562-6
- Ma, S., Zhang, J., Liu, H., Li, S. ve Wang, Q. (2022). The Role of Tissue-Resident Macrophages in the Development and Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 896591. doi.org/10.3389/fcell.2022.896591
- Mateus, V., Rocha, J., Alves, P., Mota-Filipe, H., Sepodes, B. ve Pinto, R. M. A. (2017). Anti-Inflammatory Effect of Erythropoietin in the TNBS -induced Colitis. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 120(2), 138–145. doi.org/10.1111/bcpt.12663

- Matsubara K., Kayashima T., Mori M., Yoshida H. ve Mizushima Y. (2008). Inhibitory effects of vitamin K3 on DNA polymerase and angiogenesis. *International Journal of Molecular Medicine*. 22(3):381-7 doi.org/10.3892/ijmm_00000034
- McAmis, W. C., Schaeffer, R. C., Baynes, J. W. ve Wolf, M. B. (2003). Menadione causes endothelial barrier failure by a direct effect on intracellular thiols, independent of reactive oxidant production. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1641(1), 43–53. doi.org/10.1016/S0167-4889(03)00063-6
- Meier, J. ve Sturm, A. (2011). Current treatment of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*, 21;17(27):3204-12. doi.org 10.3748/wjg.v17.i27.3204.
- Mercaldi Pastrelo, M., Dias Ribeiro, C. C., Willamys Duarte, J., Pitelli Boiago Gollucke, A., Artigiani-Neto, R., Araki Ribeiro, D.,...Jankiel Miszputen, (2017). Effect of Concentrated Apple Extract on Experimental Colitis Induced by Acetic Acid. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 6(1). doi.org/10.22088/acadpub.BUMS.6.1.38
- Miceli, P. C. ve Jacobson, K. (2003). Cholinergic pathways modulate experimental dinitrobenzene sulfonic acid colitis in rats. *Autonomic Neuroscience*, 105(1), 16–24. doi.org/10.1016/S1566-0702(03)00023-7
- Modesto, R., Estarreja, J., Silva, I., Rocha, J., Pinto, R. ve Mateus, V. (2022). Chemically Induced Colitis-Associated Cancer Models in Rodents for Pharmacological Modulation: A Systematic Review. *Journal of Clinical Medicine*, 11(10), 2739. doi.org/10.3390/jcm11102739
- Moninuola, O. O., Milligan, W., Lochhead, P. ve Khalili, H. (2018). Systematic review with meta-analysis: Association between acetaminophen and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis exacerbation. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 47(11), 1428–1439. doi.org/10.1111/apt.14606
- Morris G.P., Beck P.L., Herridge M.S., Depew W.T., Szewczuk M.R. ve Wallace J.L. (1989). Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, 96(3):795-803. PMID: 2914642.

- Nakase, H., Sato, N., Mizuno, N. ve Ikawa, Y. (2022). The influence of cytokines on the complex pathology of ulcerative colitis. *Autoimmunity Reviews*, 21(3), 103017. doi.org/10.1016/j.autrev.2021.103017
- Negri, L. B., Mannaa, Y., Korupolu, S., Farinelli, W. A., Anderson, R. R. ve Gelfand, J. A. (2023). Vitamin K3 (Menadione) is a multifunctional microbicide acting as a photosensitizer and synergizing with blue light to kill drug-resistant bacteria in biofilms. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 244, 112720. doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2023.112720
- Neurath, M. F. (2014). Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 329–342. doi.org/10.1038/nri3661
- Nieto, N., Torres, M. I., Ndez, M. I. F., Rez, M. D. S., ve Gil, A. (2000). Experimental Ulcerative Colitis Impairs Antioxidant Defense System in Rat Intestine. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(9):1820-7. doi.org/ 10.1023/a:1005565708038.
- Özkanlar, S., Akçay, F., Halici, Z. ve Uyanik, M. H. (2016). Comparison of the Therapeutic Effects of Antibiotic, Steroid, and Vitamin K during Early Sepsis in Laboratory Animals. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1). doi.org/10.17094/avbd.86734
- Paiotti, A. P. R., Miszputen, S. J., Oshima, C. T. F., De Oliveira Costa, H., Ribeiro, D. A. ve Franco, M. (2009). Effect of COX-2 inhibitor after TNBS-induced colitis in wistar rats. *Journal of Molecular Histology*, 40(4), 317–324. doi.org/10.1007/s10735-009-9243-0
- Pannia E ve Dowling JJ. (2024). A pro-oxidant suppresses unrelated diseases. *Science*. 25;386(6720):380-381. doi.org/10.1126/science.adt2538.
- Paulis, G., Paulis, A., De Giorgio, G. ve Quattrocchi, S. (2024). Measurement of Oxidative Stress Index (OSI) in Penile Corpora Cavernosa and Peripheral Blood of Peyronie's Disease Patients: A Report of 49 Cases. *Metabolites*, 14(1), 55. doi.org/10.3390/metabo14010055
- Peng, S., Shen, L., Yu, X., Zhang, L., Xu, K., Xia, Y,...Luo, H. (2023). The role of Nrf2 in the pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. *Frontiers in Immunology*, 14-2023. doi.org/10.3389/fimmu.2023.1200111

- Peng, Z., Wang, H., Zhang, R., Chen, Y., Xue, F., Nie, H.,...Tan, Q. (2013). Gastrodin Ameliorates Anxiety-Like Behaviors and Inhibits IL-1 β Level and p38 MAPK Phosphorylation of Hippocampus in the Rat Model of Posttraumatic Stress Disorder. *Physiological Research*, 62(5):537–545. doi.org/10.33549/physiolres.932507
- Pereira, C., Grácio, D., Teixeira, J. P. ve Magro, F. (2015). Oxidative Stress and DNA Damage: Implications in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(10):2403-17. doi.org/10.1097/MIB.0000000000000506
- Perše, M. ve Cerar, A. (2012). Dextran Sodium Sulphate Colitis Mouse Model: Traps and Tricks. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012;2012:718617, 1–13. doi.org/10.1155/2012/718617
- Piechota-Polanczyk, A. ve Fichna, J. (2014). Review article: The role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 387(7), 605–620. doi.org/10.1007/s00210-014-0985-1
- Quaglio, A. E. V., Grillo, T. G., Oliveira, E. C. S. D., Stasi, L. C. D. ve Sasaki, L. Y. (2022). Gut microbiota, inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 28(30), 4053–4060. doi.org/10.3748/wjg.v28.i30.4053
- Quera, R., Núñez, P., Sicilia, B., Flores, L. ve Gomollón, F. (2023). Corticosteroids in inflammatory bowel disease: Are they still a therapeutic option? *Gastroenterología y Hepatología (English Edition)*, 46(9), 716–726. doi.org/10.1016/j.gastre.2022.10.019
- Qiu, Y., Guo, J., Mao, R., Chao, K., Chen, B., He, Y.,...Chen, M. (2017). TLR3 preconditioning enhances the therapeutic efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cells in TNBS-induced colitis via the TLR3-Jagged-1-Notch-1 pathway. *Mucosal Immunology*, 10(3), 727–742. doi.org/10.1038/mi.2016.78
- Rabelo Socca, E. A., Luiz-Ferreira, A., De Faria, F. M., De Almeida, A. C., Dunder, R. J., Manzo, L. P. ve Souza Brito, A. R. M. (2014). Inhibition of tumor necrosis factor- α and cyclooxygenase-2 by Isatin: A molecular mechanism of protection against TNBS-induced colitis in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 209, 48–55. http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2013.11.019

- Rezaie, A., Parker, R. D. ve Abdollahi, M. (2007). Oxidative Stress and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease: An Epiphenomenon or the Cause? *Digestive Diseases and Sciences*, 52(9), 2015–2021. doi.org/10.1007/s10620-006-9622-2
- Rezaei, N., Eftekhari, M. H., Tanideh, N., Mokhtari, M. ve Bagheri, Z. (2018). Protective Effects of Honey and *Spirulina Platensis* on Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 20(4), 1-11 doi.org/10.5812/ircmj.62517
- Sánchez-Hidalgo, M., Martín, A. R., Villegas, I. ve Alarcón De La Lastra, C. (2007). Rosiglitazone, a PPAR γ ligand, modulates signal transduction pathways during the development of acute TNBS-induced colitis in rats. *European Journal of Pharmacology*, 562(3), 247–258. doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.01.047
- Sheibanie, A. F., Yen, J.-H., Khayrullina, T., Emig, F., Zhang, M., Tuma, R. ve Ganea, D. (2007). The Proinflammatory Effect of Prostaglandin E2 in Experimental Inflammatory Bowel Disease Is Mediated through the IL-23 $\rightarrow$ IL-17 Axis. *The Journal of Immunology*, 178(12), 8138–8147. doi.org/10.4049/jimmunol.178.12.8138
- Shen, J., Cheng, J., Zhu, S., Zhao, J., Ye, Q., Xu, Y.,...Zheng, X. (2019). Regulating effect of baicalin on IKK/I κ B/NF- κ B signaling pathway and apoptosis-related proteins in rats with ulcerative colitis. *International Immunopharmacology*, 73, 193–200. doi.org/10.1016/j.intimp.2019.04.052
- Shertzer H. G., Lastbom, L., Sainsbury, M. ve Moldbuss P. (1992). Menadione-mediated membrane fluidity alterations and oxidative damage in rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 28,43(10):2135-2142. https://doi.org/10.1016/0006-2952(92)90172-f.
- Silva, I., Solas, J., Pinto, R. ve Mateus, V. (2022). Chronic Experimental Model of TNBS-Induced Colitis to Study Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4739. doi.org/10.3390/ijms23094739
- Silva, I., Pinto, R., ve Mateus, V. (2019). Preclinical Study in Vivo for New Pharmacological Approaches in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review of Chronic Model of TNBS-Induced Colitis. *Journal of Clinical Medicine*, 8(10), 1574. doi.org/10.3390/jcm8101574

- Sokol H., Vasquez N., Hoyeau-Idrissi N., Seksik P., Beaugerie L., Lavergne-Slove A.,...Marteau P. (2010). Crypt abscess-associated microbiota in inflammatory bowel disease and acute self-limited colitis. *World Journal of Gastroenterology*, 16(5), 583. doi.org/10.3748/wjg.v16.i5.583
- Specian, R. D. ve Oliver, M. G. (1991). Functional biology of intestinal goblet cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 260(2), C183–C193. doi.org/10.1152/ajpcell.1991.260.2.C183
- Strober, W., Fuss, I. ve Mannon, P. (2007). The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Investigation*, 117(3), 514–521. doi.org/10.1172/JCI30587
- Székely, H., Tóth, L. M., Rancz, A., Walter, A., Farkas, N., Sárközi, M. D.,... Miheller, P. (2024). Anti-tumor Necrosis Factor Alpha Versus Corticosteroids: A 3-fold Difference in the Occurrence of Venous Thromboembolism in Inflammatory Bowel Disease—A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Crohn's and Colitis*, 18(5), 773–783. doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjad193
- Şirinyıldız, F. (2020). Deneysel Hayvan Modelinde İncir (Ficus Carica) Çekirdeği Yağının TNBS ile İndüklenen Kolit Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Tampo, Y. ve Yonaha, M. (1996). Enzymatic and Molecular Aspects of the Antioxidant Effect of Menadione in Hepatic Microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 334(1), 163–174. doi.org/10.1006/abbi.1996.0442
- Tanaka, K.-I., Suemasu, S., Ishihara, T., Tasaka, Y., Arai, Y. ve Mizushima, T. (2009). Inhibition of both COX-1 and COX-2 and resulting decrease in the level of prostaglandins E2 is responsible for non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-dependent exacerbation of colitis. *European Journal of Pharmacology*, 603(1–3), 120–132. doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.11.058
- Tanaka, S., Nishiumi, S., Nishida, M., Mizushima, Y., Kobayashi, K., Masuda, A.,...Yoshida, M. (2010). Vitamin K3 attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through inhibition of nuclear factor- κ B activation. *Clinical and Experimental Immunology*, 160(2), 283–292. doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.04083.x

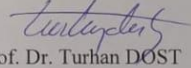
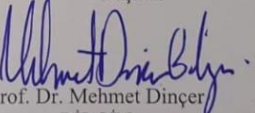
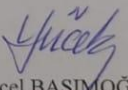
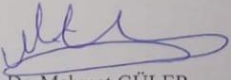
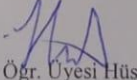
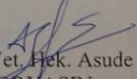
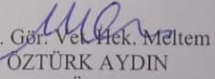
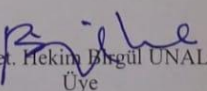
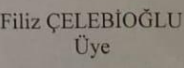
- Thijssen, H. H. W., Vervoort, L. M. T., Schurgers, L. J., & Shearer, M. J. (2006). Menadione is a metabolite of oral vitamin K. *British Journal of Nutrition*, 95(2), 260–266. <https://doi.org/10.1079/BJN20051630>
- Treuting, P. M. ve Hsu, C. (2017). Authors' Response: Crypt Abscesses. *Veterinary Pathology*, 54(2), 346–347. doi.org/10.1177/0300985816681413
- Uruş S. ve Serindağ O. (2008). Catalytic Synthesis of Vitamin K3 (2-Methyl-1,4-Naphthoquinone). Doktora Tezi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 19-2
- Van Der Flier, L. G. ve Clevers, H. (2009). Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium. *Annual Review of Physiology*, 71(1), 241–260. doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163145
- Van Es, J. H., Van Gijn, M. E., Riccio, O., Van Den Born, M., Vooijs, M., Begthel, H.,...Clevers, H. (2005). Notch/ γ -secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells. *Nature*, 435(7044), 959–963. doi.org/10.1038/nature03659
- Villanacci, V., Reggiani-Bonetti, L., Salviato, T., Leoncini, G., Cadei, M., Albarello, L.,...Parente, P. (2021). Histopathology of IBD Colitis. A practical approach from the pathologists of the Italian Group for the study of the gastrointestinal tract (GIPAD). *Pathologica*, 113(1), 39–53. doi.org/10.32074/1591-951X-235
- Wallace, J. L. ve Keenan, C. M. (1990). An orally active inhibitor of leukotriene synthesis accelerates healing in a rat model of colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 258(4), G527–G534. doi.org/10.1152/ajpgi.1990.258.4.G527
- Wang, K., Wang K., Yuan C.P., Wang W., Yang Z.Q., Cui W.,...Mu L.Z. (2010). Expression of interleukin 6 in brain and colon of rats with TNBS-induced colitis. *World Journal of Gastroenterology*, 16(18), 2252-9. doi.org/10.3748/wjg.v16.i18.2252
- Wang, Z., Li, S., Cao, Y., Tian, X., Zeng, R., Liao, D.-F. ve Cao, D. (2016). Oxidative Stress and Carbonyl Lesions in Ulcerative Colitis and Associated Colorectal Cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 9875298. doi.org/10.1155/2016/9875298

- Whittle, B. J. R., Varga, C., Berko, A., Horvath, K., Posa, A., Riley, J. P.,... Dunford, P. J. (2008). Attenuation of inflammation and cytokine production in rat colitis by a novel selective inhibitor of leukotriene A₄ hydrolase. *British Journal of Pharmacology*, 153(5), 983–991. doi.org/10.1038/sj.bjp.0707645
- Wiercińska–Drapało, A., Flisiak, R. ve Prokopowicz, D. (1999). Effects of ulcerative colitis activity on plasma and mucosal prostaglandin E₂ concentration. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 58(2–4), 159–165. doi.org/10.1016/S0090-6980(99)00032-5
- Xie, Y., Li, S., Wu, D., Wang, Y., Chen, J., Duan, L. ve Li, Y. (2024). Vitamin K: Infection, Inflammation, and Auto-Immunity. *Journal of Inflammation Research, Volume 17*, 1147–1160. doi.org/10.2147/jir.s445806
- Xu, B., Li, Y., Xu, M., Yu, C., Lian, M., Tang, Z.,...Lin, Y. (2017). Geniposide ameliorates TNBS-induced experimental colitis in rats via reducing inflammatory cytokine release and restoring impaired intestinal barrier function. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(5), 688–698. doi.org/10.1038/aps.2016.168
- Yamashoji, S. (2016). Different characteristics between menadione and menadione sodium bisulfite as redox mediator in yeast cell suspension. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 6, 88–93. doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.03.007
- Yaneva, Z., Ivanova, D., Toneva, M., Tzanova, M., Marutsova, V. ve Grozeva, N. (2023). Menadione Contribution to the In Vitro Radical Scavenging Potential of Phytochemicals Naringenin and Lignin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), 16268. doi.org/10.3390/ijms242216268
- Yang, J., Ke, J.-Y., Lian, Y.-L., Zhang, Y., Huang, J.-F. ve Wang, L. (2018). Vitamin K₃ Regulates Reactive Oxygen Species and Extracellular-Regulated Protein Kinase in Differentiated PC-12 Cells within a Safe Dose Range. *Reproductive and Developmental Medicine*, 2(2), 74–80. doi.org/10.4103/2096-2924.242757
- Yang, S. ve Yu, M. (2021). Role of Goblet Cells in Intestinal Barrier and Mucosal Immunity. *Journal of Inflammation Research, Volume 14*, 3171–3183. doi.org/10.2147/JIR.S318327
- Yang, Y., Yan, H., Jing, M., Zhang, Z., Zhang, G., Sun, Y. ve Xu, L. (2016). Andrographolide derivative AL-1 ameliorates TNBS-induced colitis in mice:

- Involvement of NF- κ B and PPAR- γ signaling pathways. *Scientific Reports*, 6(1), 29716. doi.org/10.1038/srep29716
- Zhang, Y., Fu, L. ve Tang, F. (2017). The protective effects of magnolol on acute trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Molecular Medicine Reports*. 17(3):3455-3464. doi.org/10.3892/mmr.2017.8321
- Zhang, Y., Zhao, Y., Wang, Z., Gong, H., Ma, L., Sun, D.,...Huang, K. (2018). Menadione sodium bisulfite inhibits the toxic aggregation of amyloid- β (1–42). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- General Subjects*, 1862(10), 2226–2235. doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.07.019
- Zhang, Y.-Z., Li, Y.-Y. (2014). Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 91. doi.org/10.3748/wjg.v20.i1.91
- Zheng, X., Hou, Y., He, H., Chen, Y., Zhou, R., Wang, X.,...Jiang, W. (2021). Synthetic vitamin K analogs inhibit inflammation by targeting the NLRP3 inflammasome. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(10), 2422–2430. doi.org/10.1038/s41423-020-00545-z
- Zhu, L., Shen, H., Gu, P., Liu, Y., Zhang, L. ve Cheng, J. (2020). Baicalin alleviates TNBS-induced colitis by inhibiting PI3K/AKT pathway activation. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20(1), 581–590. doi.org/10.3892/etm.2020.8718

EKLER

Ek1. HADYEK Onay Belgesi

	T.C. AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (ADÜ-HADYEK)	
09/04/2025		
Oturum	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2025 Yılı IV. Oturum	
Sayı	: 64583101/2025/064	
Proje Başlığı	: TNBS ile indüklenen deneysel kolit modelinde Menadion (Vitamin K3) uygulamasının inflamasyon üzerindeki etkileri.	
Proje Yürütücüsü	: Gökhan CESUR	
Proje Ekibi	: Derya IŞLER	
Hayvan Çalışması	Bu çalışmanın hiçbir bölümünde İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması İnsanlarda araştırma İnsan olmayan primatların kullanılması Transgenik hayvanların kullanılması Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.	
Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.		
 Prof. Dr. Turhan DOST Başkan		
 Prof. Dr. Cengiz ÜNSAL Başkan Yardımcısı	 Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN Üye	 Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLUKOCA Üye
 Doç. Dr. Mehmet GÜLER Üye	 Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin ŞEKER Üye	 Öğr. Gör. Vet. Hek. Asude Gülce ÖRYAŞIN Üye
 Öğr. Gör. Vet. Hek. Meltem ÖZTÜRK AYDIN Üye	 Dr. Vet. Hekim Burçul UNAL Üye	 Filiz ÇELEBİOĞLU Üye
*Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.		

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“TNBS İle İndüklenen Deneysel Kolit Modelinde Menadion (Vitamin K3) Uygulamasının İnflamasyon Üzerindeki Etkileri” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Derya İŞLER

08/08/2025

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Derya İŞLER
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Diyarbakır / 28.08.1980
Telefon : 05072185446
E-mail : deryaisler80@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Fizyoloji (TIP)	-
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Fizyoloji (TIP)	2021
Lisans	Dumlupınar Üniversitesi Kütahya SYO. Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	2003

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Unvan
2003-2008	Aydın UFUK Özel Rehabilitasyon Merkezi	Fizyoterapist
2008-2011	Aydın BSK ANKA (Özel Medinova) Hastanesi	Fizyoterapist

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

1. Hakemli, Effect of Ficus carica (fig) seed oil administration on GSH levels, necrosis and cast formation in myoglobinuric acute kidney injury. Cukurova Medical Journal, 2022.

2. PROJELER

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

1. Uluslararası, The effect of Ficus carica (fig) seed oil administration on GSH levels and necrosis formation in myoglobinuric acute kidney injury. 3rd International Congress of Multidisciplinary Studies in Medical Sciences, 2021 (Tam metin bildirisi).

2. Uluslararası, The health effects of astaxanthin as a food ingredient. International Conference on Science, Technology, Engineering and Economy (ICOSTEE), 2022.

3. Uluslararası, A review on the analysis of six different experimental anemia models. XL Congress of the Spanish Society of Physiological Sciences (SECF), 2022.

4. Uluslararası, Deneyisel kemirgen çalışmalarında klorpirifos kardiyotoksitesitesi. 6. Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi (ICAEH 2023), 2023.

5. Uluslararası, Arseniğe bağlı kardiyotoksitesitenin deneyisel modellemelerde patofizyolojik süreçlerinin belirlenmesi. 6. Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi (ICAEH 2023), 2023

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

4. Uluslararası Bilimsel Kitaplardaki Bölümler

Nörofizyolojik hayvan deneyleri modelleri, 2024. Sağlık Bilimlerinde Uluslararası Akademik Çalışmalar. ISBN: 978-625-6319-26-4.

Sirkadiyen ritimden krono-egzersize, 2022. Sağlık Bilimlerinde Güncel Araştırmalar. ISBN: 978-625-430-049-3.